

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
am Klinikum der
Justus - Liebig - Universität Giessen

**MITOGENREAKTIVITÄT, LYMPHOTOXINPRODUKTION UND
SUBPOPULATIONSSPEKTRUM MENSCHLICHER
BLUTLYMPHOZYTEN IM SCHOCK UND UNTER
PHARMAKOLOGISCHER CORTISONTHERAPIE.**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus - Liebig - Universität Giessen

Vorgelegt von
Schirmer, Burkhard
aus Melsungen

Giessen 1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552617_0031

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
am Klinikum der
Justus - Liebig - Universität Giessen

**MITOGENREAKTIVITÄT, LYMPHOTOXINPRODUKTION UND
SUBPOPULATIONSSPEKTRUM MENSCHLICHER
BLUTLYMPHOZYTEN IM SCHOCK UND UNTER
PHARMAKOLOGISCHER CORTISONTHERAPIE.**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus - Liebig - Universität Giessen



Vorgelegt von
Schirmer, Burkhard
aus Melsungen

Giessen 1980

Dekan:

Prof. Dr. Dr. h. C. Ringleb

1. Berichterstatter:

Priv. Doz. Dr. Desaga

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Mueller-Eckhardt



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1.0.0. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.1.0. Einführung mit Literaturübersicht	1
1.2.0. Problemstellung	7
2.0.0. PATIENTEN UND METHODEN	9
2.1.0. Patienten	9
2.1.1. Übersicht	9
2.1.2. Klinische Daten	10
2.2.0. Methoden	19
2.2.1. Medien und Materialien	19
2.2.2. Zellisolierung aus dem Blut	21
2.2.3. Lymphozytentransformationstest	21
2.2.4. Lymphotoxinnachweis	23
2.2.5. Targetzellenvitalitätsprüfung	26
2.2.6. FHG Markierung	28
2.2.7. Immunglobulin Markierung	30
2.2.8. FHG/Immunglobulin Doppelmarkierung	31
2.2.9. E-Spontanrosetten	32
2.3.0. Statistische Bearbeitung	33
2.3.1. Graphische Darstellung	33
2.3.2. Beurteilung der Abbildungen	35
2.3.3. Beurteilung des Lymphotoxinnachweises	37
3.0.0. BEFUNDE	40
3.1.0. Normalbefunde	40
3.1.1. Lymphozytentransformationstest	40
3.1.2. Lymphotoxinnachweis	40
3.1.3. Targetzellenvitalitätsprüfung	43
3.1.4. FHG Markierung	43
Immunglobulin Markierung	43
FHG/Immunglobulin Doppelmarkierung	43
3.1.5. E-Spontanrosetten	50
3.2.0. Schockinduzierte Auswirkungen	51
3.2.1. Beeinflussung der funktionellen Kapazität	51
3.2.2. Beeinflussung des Subpopulationsspektrums	55

3.3.0. Cortisoninduzierte Auswirkungen	59
3.3.1. Beeinflussung der funktionellen Kapazität	59
3.3.2. Beeinflussung des Subpopulationsspektrums	70
3.4.0. Funktionelle Kapazität und Subpopulationsspektrum	77
3.4.1. Funktionelle Kapazität cortisonresistenter Zellen	77
3.4.2. Einteilung nach funktionellen Aspekten	79
4.0.0. DISKUSSION	84
5.0.0. ZUSAMMENFASSUNG	104
6.0.0. LITERATURVERZEICHNIS	105

1.0.0. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1.1.0. Einführung mit Literaturübersicht

Schon recht früh wurden bei schweren septischen Krankheitsbildern "Reizformen" lymphatischer Zellen beschrieben (TÜRK, 1898). Außerdem wurde ein Abfall der peripheren Lymphozytenzahl bei akuten schockbedingten Mikrozirkulationsstörungen beobachtet (SELYE, 1953, HOFF, 1957). Dabei sinkt die Zahl der Lymphozyten im Blut auf etwa 2/3 des Ausgangswertes ab, um schließlich nach ungefähr weiteren 6 Stunden wieder langsam anzusteigen (HOFF, 1929, CHARTON, 1969).

Bereits zu diesem Zeitpunkt kann man pathologisch-anatomisch in den Gefäßen des Nierenmarks eine intravasale Anreicherung von Lymphozyten finden (BAKER, 1958, REMMELE, 1968, REMMELE et al., 1968).

Analog dazu sind in der Lunge neben dem Phänomen der intravaskulären Leukozytose allgemein (ROGERS und MELLY, 1957, ZWEIFACH, 1961, HORN und COLLINS, 1968, RATLIFF et al., 1970, WILSON et al., 1971) auch deutlich vermehrt Lymphozyten zu erkennen (CLOWES et al., 1970, CLOWES, 1973 a, BROWN und WILLOUGHBY, 1973). Möglicherweise vergleichbare morphologische Veränderungen in der Leber wurden bisher weniger beachtet (PLATT et al., 1977).

Der Einfluß von Cortison auf das lymphatische Zellsystem (INGLE, 1938, COBURG et al., 1970, LEVINE und CLAMAN, 1970, COHEN, 1972, FAUCI und DALE, 1974, YU et al., 1974, FAUCI et al., 1976) sowie die in der Literatur berichtete positive Beeinflussbarkeit von Schockzuständen, insbesondere beim kardiogenen Schock durch Herzinfarkt (HAUSS et al., 1974, MORRISON et al., 1976, DOHRMANN et al., 1977, JANISCH und KESSEL, 1978, MÜLLER und NAGEL, 1979) durch die hochdosierte Cortisontherapie und das seltenere Auftreten einer "Schock-lunge" (TILLING und KNICK, 1960, FUKUDA et al., 1964, THOMAS

und BROCKMANN, 1968, SCHUMNER, 1969, SCHUMNER und NYHUS, 1970, BARZILAI et al., 1972, LILLEHEI et al., 1972, SCHUMNER et al., 1972, WILSON, 1972, GLENN, 1974, MOTSAI et al., 1974, WEIL et al., 1974, LUNDGAARD-HANSEN, 1974, 1975, SENECA und GRANT, 1975, GRABNER, 1975, BOWEN und MILLER, 1975, STEINBEREITHNER, 1976 a, b, SHATNEY et al., 1976, WICHERT, 1977, RIDE et al., 1977, 1978) gaben den Anlaß, die Auswirkungen dieser Therapieform auf die zirkulierenden Lymphozyten zu untersuchen (DESAGA et al., 1977 b, c).

Im Tierexperiment reagieren nach Cortisongabe die meisten Thymuslymphozyten sensibel (Zytolyse), während 3 - 5 % der Zellen eine Cortisonresistenz aufweisen (LEVINE und CLAMAN, 1970, DUMONT und ROBERT, 1976). Diese sogenannten cortisonresistenten Zellen zeigen charakteristische physikalische, morphologische und funktionelle Eigenschaften (BLOMGREN et al., 1970, BLOMGREN und SVEDMYR, 1971, BLOMGREN und ANDERSSON, 1971, 1972, LECKBAND und BOYSE, 1971, TAKIGUCHI, 1971, COHEN, 1972, JANOSSY und GREAVES, 1972).

Außerdem hemmt Cortison, sowohl in vitro als auch in vivo verabreicht, bei verschiedenen untersuchten Spezies die proliferative Antwort der Lymphozyten auf Mito- und Antigene (DRINGS und SONNEMANN, 1973, HEILMANN et al., 1973, BLOMGREN, 1974, CHEIGH et al., 1975, GROSS und HOLT, 1975, MUSCOPLAT et al., 1975, ROSENBERG et al., 1975, BLOMGREN und ANDERSSON, 1976, DEHLING et al., 1976, FAUCI, 1976, JEFFERY et al., 1976, JUY et al., 1976, DUMONT und ROBERT, 1976).

Entsprechend wird die Freisetzung von Lymphotoxin (WILLIAMS und GRANGER, 1969) sowie die anderer lymphozytärer Mediatoren wie z. B. des "macrophage inhibitory factor" (MIF) (WAHL, 1975, WAHL et al., 1975) durch Cortison reduziert.

Lymphatische Zellen unterteilt man in zwei Gruppen (GREAVES et al., 1974, LOOR und ROELANTS, 1977, KNAPP, 1977): Thymusabhängige T- und bursa- (bei Vögeln), bzw. knochenmarksab-

hängige (beim Säugetier) B-Zellen. Diesbezüglich sind die T-Lymphozyten in erster Linie für die zellgebundenen Immunreaktionen verantwortlich, während die B-Lymphozyten hauptsächlich humorale Abwehrfunktionen ausfüllen.

Die Lymphozyten weisen lichtmikroskopisch eine derartige Polymorphie auf, die eine morphologische Standardisierung erschwert. T- und B-zelltypische Eigenschaften fehlen (TREPEL, 1976). Auch elektronenmikroskopisch ist keine sichere Einordnung in eine der Subpopulationen möglich (LIN et al., 1973, POLLIAK et al., 1973, ALEXANDER et al., 1976, ROAT et al., 1978).

Erst die Markierung der an der Zelloberfläche befindlichen Antigen- und Rezeptorstrukturen erlaubt eine reproduzierbare Klassifizierung von T- und B-Zellen.

Die charakteristische Eigenschaft von B-Lymphozyten in allen untersuchten Spezies ist die leichte Nachweisbarkeit von membrangebundenem selbstproduziertem Immunglobulin (PERNIS et al., 1970, UNANUE et al., 1971, FRÖLAND et al., 1971). Als sicherster Nachweis der B-Zellnatur eines Lymphozyten dient der Nachweis einer aktiven Resynthese vorher entfernten M-Ig's (PREUD'HOMME und SELIGMAN). Die B-Untergruppen lassen sich dann weiter mit monospezifischen Antiseren gegen verschiedene Ig-Ketten definieren.

Neben membrangebundenem Immunglobulin sind auf B-Lymphozyten Komplementrezeptoren (BIANCO et al., 1970, PINCUS et al., 1972, ROSS et al., 1973), F_c -Rezeptoren (DICKLER und KUNKEL, 1972, PREUD'HOMME und SELIGMAN, 1972, DICKLER et al., 1973) und Rezeptoren für das Epstein-Barr-Virus (JONDAL und KLEIN, 1973) zu finden. Mit Mäuseerythrozyten können B-Lymphozyten Rosetten bilden (STATHOPOULUS und ELLIOT, 1974).

Auf den T-Lymphozyten findet sich normalerweise kein Immunglobulin in hoher Dichte (WARNER, 1974, AIUTI et al., 1974, PARKHOUSE und ABNEY, 1977). Wenn es doch nachweisbar ist, soll es exogenen Ursprungs und vor allem auf aktivierten

T-Zellen zu finden sein (CONE, 1972, MARCHALONIS et al., 1972, 1973, FELDMANN et al., 1973, MARCHALONIS und CONE, 1973, RÖLLINGHOFF et al., 1973, GOLDSCHNEIDER und COGEN, 1973, ROELANTS et al., 1974). Dabei erfolgt die Bindung wahrscheinlich über variable Anteile von Immunglobulinstrukturen, z. B. F_C -Rezeptoren (NATVIG et al., 1976, COOPER und SELIGMAN, 1977, PARKHOUSE und ABNEY, 1977). In diesem System werden allerdings zunehmend Ausnahmen nachgewiesen, indem sich inzwischen Immunglobuline auch auf Thymus- (MARCHALONIS et al., 1973, MOROZ und HAHN, 1973, SMITH et al., 1973, CONE und MARCHALONIS, 1974, LADOULIS et al., 1974) und peripheren T-Lymphozyten (BANKHURST, 1971, MARCHALONIS et al., 1974, SANTANA et al., 1974) gefunden haben. Entsprechend wurden auch andere sogenannte B-Zellmarker wie F_C -Rezeptoren (FRÖLAND und NATVIG, 1973, LOBO et al., 1975, WINCHESTER et al., 1975, LOBO und HORWITZ, 1976) und Komplementrezeptoren (GATIN et al., 1975, STEIN et al., 1976) auf T-Zellen angetroffen.

T-zelltypische, nicht durch Antiseren definierte Oberflächenstrukturen, sind demgegenüber Rezeptoren für Schafserthrozyten (COOMBS et al., 1970, LAY et al., 1971, JONDAL et al., 1972, WYBRAN et al., 1973, JONDAL et al., 1973) und menschliche Erythrozyten (SHELDON und HOLBORROW, 1975) sowie Rezeptoren für Helix Pomatia Hämagglutinin (HAMMARSTRÖM et al., 1973), für lymphoblastoide B-Zellen (JONDAL et al., 1975), für das F_C -Fragment vom Ig-M (MORETTA et al., 1975) und für das C-reaktive Protein (MORTENSEN et al., 1975). Außerdem lassen sich T-Lymphozyten auch noch durch heterologe Anti-T-Zellseren weiter differenzieren (AIUTI und WIGZELL, 1973, SMITH et al., 1973).

Weitere funktionelle - und Oberflächenantigen-Untersuchungen führten zur Formulierung der " T_1 - T_2 -Hypothese", die von zwei T-Zelltypen ausgeht (RAFF und CANTOR, 1971). Einmal von der relativ kurzlebigen und überwiegend im Thymus und in der Milz lokalisierten T_1 -Zelle, mit hoher Thy-Antigen-Dichte, die nach Antigenkontakt zur "memory"-Zelle ausreift, und zum

anderen von der langlebigen rezirkulierenden T₂-Zelle, aus Lymphknoten und Blut stammend, mit wenig Thy-Antigen auf der Zelloberfläche, die nach Sensibilisierung in der T-Zellantwort reagiert.

Zudem lassen sich tierexperimentell die T-Zellen, anhand des Verteilungsmusters der Antigenstrukturen Ly-1, Ly-2 und Ly-3 (KISIELOW et al., 1975, CANTOR und BOYSE, 1975 a, b), sowie ergänzender funktioneller Untersuchungen in sogenannte Effektorzellen wie Killer-, Helfer- und Suppressorlymphozyten unterteilen. T-Zellen vom Phänotyp Ly-2 + -3 zeigen Killer-, die vom Typ Ly-1 Helferaktivität (CLAMAN et al., 1966, HIRST et al., 1975). Dieses Differenzierungssystem ist bisher noch nicht beim Menschen anwendbar.

Bei menschlichen Lymphozyten bietet der Nachweis von verschiedenen F_C-Rezeptoren weitere Unterscheidungsmöglichkeiten (ANDERSSON und GREY, 1974, YOSHIDA und ANDERSSON, 1972, HARRIS et al., 1973, KRAMER et al., 1973, FERRARINI et al., 1975, MORETTA et al., 1975, STOUT und HERZENBERG, 1975).

Lymphozytenpopulationen unterscheiden sich ebenfalls in ihrem mitogenen Reaktionsmuster gegenüber Lectinen (STOBO und PAUL, 1973). Gut mit PHA und ConA reagierende Zellen haben eine hohe Thy-1-Dichte und gehören der Ly-1-Fraktion an. Demgegenüber reagieren Lymphozyten mit niedriger Thy-1-Dichte und vom Phänotyp Ly-1 + -2 besser mit PHA (HIRST et al., 1975). Auch Zellen des Typs Ly-2 + -3 reagieren mit ConA; ihnen wird eine Suppressorfunktion zugeschrieben (RICH und RICH, 1975). Inwieweit für die mitogene Reaktionsfähigkeit zellspezifisch hauptsächlich T- oder B-Lymphozyten verantwortlich sind, darüber finden sich in der Literatur bei den untersuchten Spezies zum Teil widersprüchliche Angaben. Die meisten Arbeiten sprechen für eine Hauptbeteiligung der T-Zellen (AUGUST et al., 1968, ANDERSSON et al., 1972, GREAVES und BAUMINGER, 1972, JANOSSY und GREAVES, 1972, GAYL-PECZALSKA et al., 1973, GEHA und MERLER, 1974), andere für die B-Zellen (PEAVY et al., 1970,

JANOSSY und GREAVES, 1971, PHILLIPS und ROIT, 1973, THOMAS und PHILLIPS, 1973, CHESS et al., 1974).

Entsprechend besteht Uneinigkeit darüber, ob man die Produktion von Lymphotoxin der T- oder B-Zellreihe zuschreiben soll; auch hier spricht sehr vieles für die T-Lymphozyten (GRANGER und WILLIAMS, 1968, SHACKS und GRANGER, 1971, SHACKS et al., 1973, ROSENAU und TSOUKAS, 1976).

Beim Menschen sind die Möglichkeiten zur Differenzierung von Lymphozytensubpopulationen im Vergleich zu tierexperimentellen Systemen wesentlich beschränkter. In der vorliegenden Untersuchung wird die funktionelle Kapazität von menschlichen Blutlymphozyten durch die spontane und PHA-induzierte Transformationsfähigkeit sowie den Nachweis einer Lymphotoxinproduktion charakterisiert.

Während für den Lymphozytentransformationstest eine bewährte Methode zur Verfügung stand (modifiziert nach DESAGA, 1978), war es beim Nachweis von Lymphotoxin zunächst erst nötig, ein neues adäquates Verfahren zu entwickeln, indem mehrere Lymphotoxinmethoden miteinander verglichen wurden. Als Ausgangsbasis diente das modifizierte Verfahren nach GRANGER und WILLIAMS (1971).

Zum ersten Mal beschrieben RUDDLE und WAKSMAN 1968 eine lösliche zytotoxische Aktivität in den Überständen von Antigenstimulierten Lymphozytenkulturen. Im gleichen Jahr entdeckten GRANGER und WILLIAMS (1968) sowohl in den Überständen von Lymphozytenkulturen, die mit dem Mitogen Phytohämagglutinin (PHA), beziehungsweise mit xenogenen Antikörpern stimuliert worden waren, als auch in den Überständen von gemischten Lymphozytenkulturen (MLC) einen Faktor mit zytotoxischer Kapazität, dem sogenannten Lymphotoxin (LT). GREEN et al. (1970) reden von einem "proliferation inhibitory factor" (PIF), während HOLZMAN et al. (1973) einen "cloning inhibitory factor" (CIF) beschreiben, die aber beide identisch mit Lymphotoxin (LT) sein dürften (JEFFER und GRANGER, 1975). Beim humanen Lymphotoxin handelt es sich wahrscheinlich um

ein Protein (Hitzelabilität, Inaktivierung durch Pronase und Phenol) mit einem Molekulargewicht zwischen 80 000 - 90 000 und einer Dichte von 1,3 (KOLB und GRANGER, 1968).

In Ergänzung dazu wird eine neue Markierungsmethode für Strukturen der lymphozytären Plasmamembran benutzt, um zusätzliche Kriterien für die Klassifizierung von Subpopulationen in der T-Zellfraktion zu gewinnen, die sogenannte FHG-Markierung. Sie beruht auf einer substratspezifischen zytochemischen Markierung des äußeren Anteils des integralen Proteins der Plasmamembran mit Fe(III)-Hydroxyd-Glykan (-Saccharose) = FHG durch Darstellung der kationischen Ladungsträger dieser Membrankomponente (DESAGA, 1978).

Menge, Dichte und Anordnung der markierten Elemente bilden charakteristische Muster, die eine weitere Differenzierung ermöglichen. Bei simultaner Darstellung von Immunglobulindeterminanten und FHG-positiven Strukturen zeichnen sich T-Zellen durch eine gruppierte, grobgranuläre, clusterförmige und B-Zellen durch eine diffuse, feinkörnige Markierung aus (DESAGA, 1975), sodaß die FHG/M-Ig-Doppelmarkierung mit Hilfe zweier Parameter eine sichere Einordnung der markierten Zellen in die B- bzw. T-Reihe erlaubt.

Bei den T-Zellen lassen sich unter zusätzlicher Einbeziehung zytologischer Kriterien wie Zellgröße, Kern-Plasmarelation und Kerngröße systematisch im wesentlichen drei Gruppen unterscheiden:

Die kleinen Lymphozyten, die mittelgroßen und die großen lymphoiden Zellen, die nur unter pathologischen Umständen vorkommen.

Anhand der FHG-Markierung weisen die T-Lymphozyten ein breites morphologisches Spektrum auf, sodaß eine weitere Aufteilung in insgesamt zwölf Unterklassen möglich ist (DESAGA, 1978).

1.2.0. Problemstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, schock- und cortisonin-

duzierte Auswirkungen auf menschliche Blutlymphozyten zu erarbeiten.

Zunächst soll experimentell eine neue adäquate Methode zum Nachweis von Lymphotoxin entwickelt werden. Als Ausgangsbasis dient das modifizierte Verfahren nach GRANGER und WILLIAMS (1971); zusätzlich finden aus Vergleichsgründen drei weitere Methoden Anwendung.

In Ergänzung dazu wird die funktionelle Kapazität der Lymphozyten in vitro durch die spontane und PHA-induzierte Transformationsfähigkeit charakterisiert.

Morphologisch lassen sich mit Hilfe eines neuen zytochemischen Markierungsverfahrens, der sogenannten FHG-Markierung, in Kombination mit immunologisch spezifischen Oberflächenmarkern verschiedene lymphozytäre Subpopulationen erfassen (DESAGA, 1978).

Untersucht wird inwieweit beim Menschen Schock und Cortisontherapie die funktionelle Kapazität, beziehungsweise das Subpopulationsspektrum peripherer Lymphozyten kinetisch beeinflussen. Insbesondere interessiert die Frage, ob sich mit der FHG-Markierung charakteristische Konstellationen nachweisen lassen, wie beispielsweise aktivierte Zellformen im Schock oder cortisonresistente Lymphozyten unter Cortisonbehandlung und inwieweit diesen phänomenologisch definierten Zellpopulationen auch funktionell abgrenzbare Gruppen entsprechen.

Außerdem soll unter Einbeziehung der klinischen Befunde versucht werden anhand der funktionellen und zytochemischen Ergebnisse bei Blutlymphozyten, die sich im Schock und unter hochdosierter Cortisontherapie ergeben, Teilaspekte des Cortisoneinsatzes und dessen Effektivität in der Schocktherapie zu gewinnen.

2.O.O. PATIENTEN UND METHODEN

2.1.O. Patienten

2.1.1. Übersicht

In der Zeit zwischen dem 13. Mai 1976 und dem 16. Oktober 1977 wurden die Blutlymphozyten von insgesamt 56 Patienten mit Schocksymptomatik und 35 Normalpersonen untersucht.

Von den Schockpatienten wurden 53 auf der Intensivstation des Zentrums für Innere Medizin und 3 auf der Wachstation des Zentrums für Chirurgie der Justus-Liebig-Universität Gießen behandelt.

21 waren weiblichen und 35 männlichen Geschlechts.

Das Alter lag zwischen 18 und 84 Jahren bei einem Altersdurchschnitt von 49 Jahren.

Unter ihnen befanden sich 28 Patienten mit einem mehr protrahiert verlaufenden, meist septischen Schock, 21 Patienten mit akutem kardiogenen Schock und 7 Patienten mit akuten Intoxikationen.

32 Patienten wurden hochdosiert mit Glukokortikoiden therapiert. 33 Patienten verstarben auf Grund der Schocksymptomatik, beziehungsweise infolge der schweren Grunderkrankungen.

Kriterien für das Vorliegen eines Schocks waren das klinische Bild, eine mehr als 6 Stunden bestehende, korrekturbedürftige starke Azidose sowie in den meisten Fällen eine Katecholaminbedürftigkeit.

Die Normalbefunde wurden an Mitarbeitern des Klinikums erhoben. Als Kriterien dienten ein anamnestisch und klinisch unauffälliger Befund sowie ein normales Differentialblutbild.

2.1.2. Klinische Daten

Sämtliche Patienten standen soweit wie erforderlich unter intensivmedizinischer Überwachung und Therapie.

Die Befunde entsprechen dem Zeitpunkt der ersten Untersuchung (Blutentnahme) und sind alle bereits durch therapeutische Maßnahmen mitbeeinflusst, sodaß sich zum Teil kompensierte Werte ergaben.

Abkürzungen:

B:	Befund
BE:	Basenüberschuß ("base excess")
CVP:	Zentraler Venendruck (cm H ₂ O)
D:	Diagnose
HF:	Herzfrequenz (1/min)
J:	Jahre
Le:	Leukozyten (1/mm ³)
Ly:	Lymphozyten (1/mm ³)
m:	männlich
n. b.:	nicht bestimmt
pH:	Blut-pH-Wert
RR:	Blutdruck (mm Hg)
T:	Therapie
V:	Verlauf
w:	weiblich

1. Bod. K., m, 53 J.

D: Schocklunge bei Zustand nach Resektion eines Ventrikelan-
eurysmas und Implantation einer Mitralklappe.

B: HF: 140, RR: 105/50, CVP: + 13.5, pH: 7.39, BE: - 2.6,
Le: 17 700, Ly: 2 280.

T: Kontrolll. Beatmung, Katecholamine.

V: Verstorben.

2. BUR., O., m, 77 J.

D: Kardiogener Schock bei Vorderwand-Reinfarkt.

B: HF: 125, RR: 120/90, CVP: + 14, pH: 7.33, BE: - 4.8,

Le: 20 200, Ly: 600.
T: Katecholamine.
V: Verstorben

3. Dör., M., w, 75 J.
D: Kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.
B: HF: 134, RR: 150/90, CVP: + 22, pH: 7.10, BE: - 9.8,
Le: 15 800, Ly: 1 000.
T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Relativ komplikationslos.
4. Dum., N., w, 29 J.
D: Schocksymptomatik bei unklarer Systemerkrankung, Ileus und Pankreatitis.
B: HF: 130, RR: 100/60, CVP: + 13,5, pH: 7.11, BE: - 14.5,
Le: 17 400, Ly: 1 740.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
5. Edl., A., w, 69 J.
D: Kardiogener Schock bei Reinfarkt.
B: HF: 100, RR: 60/-, CVP: n. b., pH: 7.17, BE: - 11.2,
Le: 19 700, Ly: 2 800
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
6. Elg., G., w, 52 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Sigmaresektion wegen Polypen und Karzinom in situ.
B: HF: 150, RR: 126/60, CVP: + 8, pH: 7.29, BE: - 5.1,
Le: 19 700, Ly: 600.
7. Gör., M., w, 63 J.
D: Kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.
B: HF: 102, RR: 110/70, CVP: + 13, pH: 7.33, BE: - 6.6,
Le: 13 800, Ly: 900.
8. Gri., F., w., 63 J.
D: Schocklunge bei Zustand nach Exstirpation einer solitären Lebermetastase nach Sigmaresektion wegen Karzinom vor zwei Jahren.
B: HF: 160, RR: 120/70, CVP: + 8, pH: 7.33, BE: - 7.9,
Le: 35 000, Ly: 1 400.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
9. Grö., P., w, 69 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Resektion eines Antrumkarzinoms.
B: HF: 110, RR: 80/-, CVP: + 2, pH: 7.01, BE: - 22.1,
Le: 15 000, Ly: 2 850.

- T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
10. Had., A., m, 32 J.
D: Inhalationsintoxikation mit Methylchlorid.
B: HF: 90, RR: 130/80, CVP: + 2, pH: 7.36, BE: - 6.1,
Le: 21 200, Ly: 1 200.
T: Glukokortikoide.
V: Komplikationslos.
11. Häd., J., m, 51 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Laparatomie wegen akuter Pankreatitis und Ileus.
B: HF: 125, RR: 100/60, CVP: + 5.5, pH: 7.24, BE: - 8.3,
Le: 25 900, Ly: 6 350.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
12. Hel., I., w, 24 J.
D: Intoxikations mit Bromcarbamid.
B: HF: 116, RR: 110/80, CVP: + 9, pH: 7.24, BE: - 8.3,
Le: 25 900, Ly: 6 350.
T: Ohne Besonderheiten.
V: Komplikationslos.
13. Hen., A., w, 18 J.
D: Beginnender septischer Schock bei Zustand nach Uterusperforation mit multiplen intraabdominellen Abzessen.
B: HF: 110, RR: 110/80, CVP: + 5, pH: 7.45, BE: - 3.8,
Le: 17 000, Ly: 1 000.
T: Glukokortikoide.
V: Relativ komplikationslos.
14. Hös., F., m, 70 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Myokardinfarkt.
B: HF: 70, RR: 115/90, CVP: + 16, pH: 7.33, BE: - 4,
Le: 8 600, Ly: 800.
T: Glukokortikoide.
V: Komplikationslos.
15. Hou., P., m, 30 J.
D: Septischer Schock bei alkoholbedingter dekompensierter Leberzirrhose, Pneumonie und Ileus.
B: HF: 132, RR: 140/50, CVP: + 20, pH: 7.39, BE: + 0.6,
Le: 8 600, Ly: 800.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
16. Jun., H., m. 45 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei hypertoner Krise mit Lungenödem und Angina pectoris.
B: HF: 100, RR: 230/100, CVP: + 11, pH: 7.26, BE: - 6.5,
Le: 7 300, Ly: 700.

T: Anfangs assist. Beatmung, Glukokortikoide.
V: Relativ komplikationslos.

17. Kat., M., w. 41 J.

D: Beginnender septischer Schock bei Zustand nach vaginaler Totalexstirpation mit Nachlaparotomie.

B: HF: 110, RR: 170/110, CVP: + 17.5, pH: 7.21, BE: - 6.3, Le: 10 900, Ly: 1 600.

T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.

V: Kompliziert mit zeitweiser Niereninsuffizienz.

18. Kie., G., m. 57 J.

D: Beginnender kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.

B: HF: 70, RR: 120/80, CVP: + 3, pH: 7.29, BE: - 3.7, Le: 12 300, Ly: 1 250.

T: Ohne Besonderheiten.

V: Relativ komplikationslos.

19. Kli., W., m. 54 J.

D: Septischer Schock bei Zustand nach Operation eines perforierten Appendix.

B: HF: 110, RR: 80/40, CVP: + 11.5, pH: 7.41, BE: - 0.4, Le: 21 000, Ly: 850.

20. Kne., B., m. 20 J.

D: Septischer Schock bei Zustand nach schwerem Unfall mit Polytraumatisierung.

B: HF: 124, RR: 100/60, CVP: + 20, pH: 7.25, BE: - 12.2, Le: 19 800, Ly: 2 200.

T: Kontroll Beatmung, Katecholamine.

V: Verstorben.

21. Köl., E., w. 20 J.

D: Intoxikation mit Bromcarbamid.

B: HF: 110, RR: 110/70, CVP: + 4, pH: 7.38, BE: - 5.8, Le: 21 000, Ly: 1 800.

T: Ohne Besonderheiten.

V: Komplikationslos.

22. Köm., J., m. 68 J.

D: Septischer Schock bei Zustand nach Operation eines blutenden Ulcus duodeni.

B: HF: 112, RR: 100/50, CVP: + 11.5, pH: 7.35, BE: - 3.9, Le: 19 700, Ly: 3 950.

T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.

V: Verstorben.

23. Kön., K.-H., m. 21 J.

D: Septischer Schock bei Zustand nach Hemikolektomie und Relaparotomie mit Ileostomie wegen Peritonitis nach Darmperforation bei rezidivierendem Morbus Crohn.

B: HF: 120, RR: 110/60, CVP: + 18, pH: 7.27, BE: - 5.6,

- Le: 63 200, Ly: 2 550.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
24. Kol., M., m, 44 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 90, RR: 130/80, CVP: + 10, pH: 7.52, BE: - 5.5,
le: 10 800, Ly: 3 350.
T: Glukokortikoide.
V: Komplikationslos.
25. Krü., H., m, 33 J.
D: Kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 116, RR: 130/95, CVP: + 10.5, pH: 7.29, BE: - 3.8,
Le: 19 200, Ly: 1 700.
T: Anfangs assist. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Akut mehrmalige Reanimation, ansonsten relativ komplikationslos.
26. Kuh., I., w, 32 J.
D: Schocklunge bei rasch proliferativer Glomerulonephritis und Friedreichscher Ataxie.
B: HF: 115, RR: 115/70, CVP: + 7, pH: 7.37, BE: - 3.1,
Le: 14 800, Ly: 1 050.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
27. Lau., W., m, 72 J.
D: Kardiogener Schock bei Reinfarkt.
B: HF: 112, RR: 120/70, CVP: + 14, pH: 7.03, BE: - 16.6,
Le: 14 400, Ly: 1 200.
T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Relativ komplikationslos.
28. Len., O., m, 44 J.
D: Schocklunge bei Zustand nach Schädel-Hirntrauma im Alkoholentzugsdelir.
B: HF: 125, RR: 125/80, CVP: + 6, pH: 7.48, BE: + 5.7,
Le: 9 100, Ly: 2 100.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
29. Lip., H., m, 67 J.
D: Septischer Schock bei Divertikulose und phlegmonöser Divertikulitis.
B: HF: 140, RR: 120/50, CVP: + 5, pH: 7.36, BE: + 1.8,
Le: 21 500, Ly: 1 300.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.

30. Loo., J., m, 30 J.
D: Septischer Schock bei Verdacht auf Viruspneumonie.
B: HF: 120, RR: 130/90, CVP: + 22, pH: 7.42, BE: - 1.9,
Le: 11 900, Ly: 1 700.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
31. Moh., L., w, 42 J.
D: Intoxikation mit Dimethoat.
B: HF: 85, RR: 70/40, CVP: + 1.5, pH: 7.20, BE: - 14.2,
Le: 16 300, Ly: 1 200.
T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Relativ komplikationslos.
32. Moy., P., m, 63 J.
D: Kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 95, RR: 115/105, CVP: + 20, pH: 7.24, BE: - 9.9,
Le: 10 600, Ly: 4 450.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
33. Pet., M., w, 37 J.
D: Mischintoxikation mit Bromcarbamid, Barbituraten und Methaqualon.
B: HF: 135, RR: 110/60, CVP: + 3, pH: 7.48, BE: - 4.5,
Le: 19 200, Ly: 400.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Kompliziert durch septische Schocksymptomatik und mehrmalige Reanimation.
34. Pre., L., w, 66 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Appendektomie wegen gangränöser Appendizitis.
B: HF: 120, RR: 120/70, CVP: + 3, pH: 7.29, BE: - 3.5,
Le: 11 200, Ly: 1 700.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
35. Ric., M., w, 23 J.
D: Schocklunge bei Mischintoxikation mit Bromcarbamid und Diazepam.
B: HF: 150, RR: 115/60, CVP: + 10, pH: 7.37, BE: - 0.3,
Le: 1 200, Ly: 400.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
36. San., L., m, 20 J.
D: Beginnende Ausbildung einer Schocklunge bei Intoxikation mit Bromcarbamid.
B: HF: 120, RR: 125/-, CVP: + 20, pH: 7.27, BE: - 11.8,
Le: 6 700, Ly: 300.
T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.

koide.

V: Relativ komplikationslos.

37. Sche., P., m, 56 J.

D: Kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.

B: HF: 115, RR: 105/70, CVP: +8, pH: 7.24, BE: - 5.5,
Le: 5 800, Ly: 1 500.

T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.

V: Verstorben.

38. Schl., A., m, 71 J.

D: Beginnender kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.

B: HF: 70, RR: 210/120, CVP: + 4, pH: 7.34, BE: - 6.5,
Le: 9 900, Ly: 3 500.

T: Glukokortikoide.

V: Komplikationslos.

39. Scho., G., w, 29 J

D: Septischer Schock bei Zustand nach Laparotomie und
Appendektomie mit Eröffnung eines Bauchdeckenabzesses
bei ausgedehnter retroperitonealer Phlegmone.

B: HF: 132, RR: 90/30, CVP: + 11, pH: 7.40, BE: - 2.2,
Le: 14 400, Ly: 4 050.

T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.

V: Verstorben.

40. Schr., F., m, 53 J.

D: Beginnender kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.

B: HF: 160, RR: 135/100, CVP: + 9.5, pH: 7.37, BE: - 4.8,
Le: 10 600, Ly: 2 200.

T: Katecholamine, Glukokortikoide.

V: Komplikationslos.

41. Schu., I., w, 23 J.

D: Beginnende Ausbildung einer Schocklunge bei Zustand
nach Cholezystektomie.

B: HF: 130, RR: 100/60, CVP: + 14, pH: 7.14, BE: - 11,
Le: 7 000, Ly: 400.

T: Anfangs kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.

V: Relativ komplikationslos.

42. Schu., W., m, 24 J.

D: Septischer Schock bei Zustand nach traumatischer mehr-
stündiger Ischämie des linken Beines, operativer Ver-
sorgung, Entwicklung multipler Abszesse und schließlich
Amputation des linken Unterschenkels.

B: HF: 140, RR: 130/80, CVP: + 7, pH: 7.40, BE: - 0.4,
Le: 14 000, Ly: 1 250.

T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.

V: Verstorben.

43. Sei., L., m, 72 J.
D: Kardiogener Schock bei Myokardinfarkt.
B: HF: 120, RR: 180/100, CVP: + 17, pH: 7.06, BE: - 16,
Le: 15 500, Ly: 1 100.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
44. Seh., J., m, 57 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.
B: HF: 90, RR: 100/70, CVP: + 7, pH: 7.31, BE: - 5.1,
Le: 7 800, Ly: 700.
T: Keine Besonderheiten.
V: Komplikationslos.
45. Sie., K., w, 84 J.
D: Septischer Schock bei Pneumonie und Asthma bronchiale.
B: HF: 130, RR: 110/90, CVP: + 10, pH: 7.45, BE: - 0.2,
Le: 17 000, Ly: 1 050.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
46. Srn., M., w, 47 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Herzdoppelklappen-
ersatz und chronisch rezidivierender Pankreatitis.
B: HF: 100, RR: 90/50, CVP: + 17, pH: 7.31, BE: - 4.2,
Le: 13 200, Ly: 2 900.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
47. Ste., F., m, 54 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 105, RR: 125/90, CVP: + 2.5, pH: 7.4, BE: - 0.8,
Le: 13 300, Ly: 1 300.
T: Keine Besonderheiten.
V: Komplikationslos.
48. Sto., R., m, 62 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Polytraumatisierung.
B: HF: 96, RR: 95/50, CVP: + 15, pH: 7.31, BE: - 5.3,
Le: 34 500, Ly: 2 500.
T: Kontroll Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
49. Tex., W., m, 64 J.
D: Kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 150, RR: 125/80, CVP: + 7, pH: 7.25, BE: - 12.2,
Le: 21 100, Ly: 1 300.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
50. Vog., H., m, 51 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Hinterwandinfarkt.
B: HF: 80, RR: 150/100, CVP: + 4.5, pH: 4.47, BE: - 3.1,

Le: 9 900, Ly: 2 300.
T: Glukokortikoide.
V: Komplikationslos.

51. Wag., E., w, 78 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 86, RR: 130/80, CVP: + 17, pH: 7.23, BE: - 10.8,
Le: 19 100, Ly: 400.
T: Katecholamine.
V: Relativ komplikationslos.
52. Wag., J., m, 40 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Notoperation einer
Herztamponade bei Vorhofmyxom.
B: HF: 100, RR: 90/60, CVP: + 20, pH: 7.51, BE: - 2.5,
Le: 15 000, Ly: 900.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
53. Wag., R., m, 24 J.
D: Ausbildung einer Schocklunge bei Candida-Sepsis nach
Koma diabetikum.
B: HF: 140, RR: 95/40, CVP: + 7, pH: 7.33, BE: - 12.2,
Le: 5 000, Ly: 1 400.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Verstorben.
54. Web., A., m, 65 J.
D: Septischer Schock bei Zustand nach Relaparotomie wegen
rezidivierender gastrointestinaler Blutungen.
B: HF: 110, RR: 80/35, CVP: + 17, pH: 7.31, BE: - 6.4,
Le: 15 400, Ly: 800.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
55. Wet., R., m, 65 J.
D: Ausbildung einer Schocklunge bei Zustand nach Operation
eines Rektumkarzinoms.
B: HF: 144, RR: 110/60, CVP: + 6.5, pH: 7.34, BE: - 4.1,
Le: 8 400, Ly: 1 900.
T: Kontroll. Beatmung, Katecholamine.
V: Verstorben.
56. Wit., W., m, 64 J.
D: Beginnender kardiogener Schock bei Vorderwandinfarkt.
B: HF: 120/40, RR: 80/40, CVP: + 7, pH: 7.38, BE: - 5.7,
Le: 22 000, Ly: 1 100.
T: Katecholamine, Glukokortikoide.
V: Komplikationslos.

2.2.0. Methoden

2.2.1. Medien und Materialien

1. ALSEVERS - Lösung (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
2. AMMONIUMSULFID (MERCK, Darmstadt)
3. ANTI - HUMAN - Immunglobulin - Antiserum vom Kaninchen (MEDAC, Hamburg)
4. ANTI - KANINCHEN - Serum vom Schwein (MEDAC, Hamburg)
5. BORSÄURE, krist., p. A. (MERCK, Darmstadt)
6. DAB - THC: 3,3-Diaminobenzidin-Hydrochlorid (SIGMA, München)
7. DMF: N,N-Dimethylformamid, p.A. (MERCK, Darmstadt)
8. FERROPHOR (TAD Pharmazeutisches Werk, Cuxhaven)
9. FICOLL - ISOPAQUE (PHARMACIA, Freiburg)
10. FETALES KÄLBERSERUM (FCS) (SEROMED, München)
11. GIEMSA - Lösung (MERCK, Darmstadt)
12. L - GLUTAMIN - Lösung (200mM) (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
13. GLUTARALDEHYD - Lösung (25 %) (SERVA, Heidelberg)
14. HANKS - Lösung (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
15. HÄMACCEL (BEHRING, Marburg)
16. HÄMALAUN - Lösung (MERCK, Darmstadt)
17. HBS: HEPES - gepufferte Salzlösung (NaCl 8.0 g, KCl 0.4 g, Na_2PO_4 0.1 g, Mannit 1.0 g, Hepes 2.38 g, Hämaccel 50 ml ad aqua dest. 1000 ml; pH = 7.2)
(APOTHEKE der Universitätsklinik Gießen)
18. HEPARIN: Liquemin 2 500 (HOFFMANN-LA ROCHE, Grenzach)
19. KULTURMEDIUM: RPMI 1.640 mit 25 mM Hepes 500 ml, 7.5 % Natriumbicarbonat 13.4 ml, 200 mM L-Glutamin 5 ml, Penicillin 100 000 I. E., Streptomycin 100 000 μg , inaktiviertes fetales Kälberserum 100 ml.
20. METHANOL, p. A. (MERCK, Darmstadt)
21. NATRIUMBICARBONAT - Lösung (7.5 %), (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
22. NEOPLASMAGEL (B. Braun, Melsungen)
23. NEURAMINIDASE (500 U/ml) (BEHRING, Marburg)

24. PAP: Kaninchen-Peroxydase-Antiperoxydase-Komplex (MEDAC, Hamburg)
 25. PBS: Phosphat gepufferte Salzlösung nach DULBECCO (Ca^{++} - und Mg^{++} -frei) (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
 26. PENICILLIN (100 000 I. E.) - STREPTOMYCIN (100 000 μg) (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
 27. PHYTOHÄMAGGLUTININ - P (PHA) (DIFCO, Detroit)
 28. POLYVIOL (604/14) (WACKER-CHEMIE, München)
 29. RONPACON - DEXTRAN - Lösung (APOTHEKE der Universitätsklinik Gießen)
 30. RPMI 1.640 mit 25 mM HEPES (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
 31. ROTISZINT 11 (C. Roth, Karlsruhe)
 32. SCHWEFELSÄURE 1 n (MERCK, Darmstadt)
 33. SORBIT (40 %) (APOTHEKE der Universitätsklinik Gießen)
 34. THYMIDIN - C - 14 (250 mikro Ci) (RADIO CHEMICAL CENTRE, Amersham, England)
 35. TRICHOLORESSIGSÄURE (20 %) (MERCK, Darmstadt)
 36. TRYPSIN - Lösung (0.25 %) (GIBCO, C. Roth, Karlsruhe)
 37. WASSERSTOFFPEROXID: Perhydrol (30 %), p. A. (MERCK, Darmstadt)
 38. WEISSE - Puffer, Titrisol pH 7.2 (MERCK, Darmstadt)
-
- A. AXIOMAT - Mikroskop (ZEISS, Oberkochen)
 - B. CORNING - Spinner (SCIENTIFIC INSTRUMENTS, Medfield, Mass., USA)
 - C. COULTER - Counter (COULTER ELECTRONICS GmbH, Krefeld)
 - D. EPPENDORF - Reaktionsgefäße (NETHELER + HINZ, Hamburg)
 - E. LIQUID SCINTILLATION SPECTROMETER, Modell 544 (PACKARD INSTRUMENT GmbH, Frankfurt (Main))
 - F. MIKROTITERPLATTEN (GREINER, Nürtingen oder FALCON PLASTICS, Heidelberg)
 - G. PROBEGEFÄSSE (20 ml) (SARSTEDT, Wiehl)
 - H. SZINTILLATIONSRÖHRCHEN (ZINSSER, Frankfurt (Main) oder C. Roth, Karlsruhe)

2.2.2. Zellisolierung aus dem Blut

Isolierung von Leukozyten

In einer 20-ml-Einmalspritze 7.5 ml frisch entnommenes heparinisieretes Venenblut vorsichtig über 6 ml Ronpacon-Dextranlösung schichten (HULLINGER und BLASCOVEC, 1967). Nach Sedimentation der Erythrozyten das leukozytenreiche Plasma abspritzen und anschließend bei 0° C zweimal in PBS waschen. Leukozytenreiche Zellsuspension ($5 - 10 \times 10^6$ Zellen/ml) in Eppendorfreaktionsgefäße überführen und zweimal in HBS waschen.

Isolierung von Lymphozyten (BØYUM, 1968, FOTINO et al., 1971)

In einem silikonisierten, sterilen 20-ml-Probegefäß (Zentrifugenröhrchen) über eine 2.5 cm hohe Lage von Ficoll-Isopaque vorsichtig 1 : 1 mit Hanks-Lösung verdünntes frisch entnommenes heparinisieretes Venenblut oder leukozytenreiches Plasma 3 cm hoch schichten.

Nach Zentrifugation (15 min, 24° C, 2 500 rpm) mononukleare Zellen in der Interphase mit Einmalkanüle und -spritze abziehen. Anschließend lymphozytenreiche Zellsuspension zweimal in PBS waschen.

2.2.3. Lymphozytentransformationstest

Prinzip:

Auslösen einer Proliferation in ruhenden Lymphozyten durch Mitogene (Lectine). Bestimmung der gesteigerten DNS-Synthese durch den 14-C-Thymidin-Einbau.

Durchführung:

Alle Schritte unter sterilen Kautelen. Ficoll-Isopaque gereinigte mononukleare Zellen (2.2.2.) in Kulturmedium resuspendieren und auf 10^6 Zellen/ml einstellen. Anschließend in Mikrotiterplatten pro Loch folgende Mengen pipettieren:

0.1 ml der Lymphozytensuspension und

0.5 μ g Phytohämagglutinin-P (PHA).

Zur Kontrolle dienen Lymphozytenkulturen ohne Mitogene.

Von jedem Ansatz (Kontroll- und PHA-Ansätze) werden 6 - 8 Proben erstellt.

Anschließend die Zellkulturen 3 Tage bei 37° C in CO₂-be-gasten Glasgefäßen inkubieren (FESTENSTEIN, 1968). 18 Stunden vor Kulturrende werden die Ansätze pro Loch mit je 0.075 μ Ci C-14-Thymidin beschickt.

Die Ernte nach 3 Tagen erfolgt durch Füllen der Zellen in den Kulturplatten (modifiziert nach FREISTEIN et al., 1972). Zellkulturen 15 min bei 0° C kaltstellen und anschließend pro Kulturloch 0.1 ml eiskalte Trichloressigsäure (20 %) zugeben.

Mikrotiterplatten 15 min bei 0° C mit 2 500 rpm zentrifugieren, dann zweimal je 5 min in Trichloressigsäure (5 %) wässern bei Raumtemperatur.

Kulturlöcher mit Glutaraldehyd (5 %) auffüllen und Kulturplatten anschließend 15 min mit 2 500 rpm zentrifugieren. Zweimal je 10 min in Methanol wässern, dann 24 Stunden in normalem Leitungswasser wässern und anschließend Kulturplatten trocknen.

Kulturlöcher einzeln aus den Mikrotiterplatten mit glühendem Draht heraus schneiden und in Szintillationsröhrchen geben. Diese mit 8 ml Szintillationsflüssigkeit Rotiszint 11 beschicken und 24 Stunden stehenlassen.

Anschließend Messung der Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler.

Auswertung:

Zunächst werden von jeweils 6 - 8 Proben die arithmetischen Mittelwerte der 14-C-Thymidin-Einbauraten in cpm (= counts pro minute) von den Kontrollansätzen ($\bar{x}_K$) und von den PHA-stimulierten Proben ($\bar{x}_{PHA}$) bestimmt.

Aus dem Quotienten dieser beiden Mittelwerte erfolgt dann die

Ermittlung des sogenannten Stimulationsindex.

$$\text{PHA - Index} = \frac{\bar{x}_{\text{PHA}}}{\bar{x}_{\text{K}}}$$

2.2.4. Lymphotoxinnachweis

Prinzip:

Lymphozyten produzieren in Kulturen unter Mitogenstimulation Lymphotoxin mit zytotoxischer Kapazität. Bestimmung der durch Lymphotoxin nicht zerstörten Targetzellen aufgrund des 14-C-Thymidin-Einbaus.

Lymphotoxingewinnung

Die Überstände von 3 Tage alten Lymphozytenkulturen (Kontrollansätze und PHA-stimulierte Proben, 2.2.3.) in sterile Eppendorfgefäße pipettieren. Anschließend 5 min bei maximaler Geschwindigkeit zentrifugieren und Überstände verwenden. Bei - 30° C eingefroren praktisch unbegrenzt haltbar.

Targetzellen

Als Targetzellen dienen in RPMI 1.640 + 10 % FCS kultivierte HELA-Zellen (menschliche Karzinomzellen vom Zervix uteri). Sie werden aus den Petrischalen mit Trypsin-Lösung (0.25 %) abgelöst, anschließend in RPMI 1.640 + FCS gewaschen und auf 5×10^4 Zellen/ml eingestellt.

Durchführung:

Alle Schritte unter sterilen Bedingungen. Von jedem Ansatz werden 6 - 8 Proben erstellt.

Erste Methode

(mod. n. GRANGER und WILLIAMS, 1971)

Zunächst 0.1 ml von der HELA-Zellsuspension ($= 5 \times 10^3$ Zellen) pro Loch der Mikrotiterplatte pipettieren. Die Zellen dann bei 37°C für 4 Tage in CO_2 -begasteten Glasgefäßen inkubieren.

Nach 24 h Mediumwechsel mit 0.2 ml frischem RPMI 1.640 + 10 % FCS.

Nach 48 h Lymphotoxinzugabe: Nach Verwerfen des alten Mediums werden pro Loch 0.1 ml Überstand zugegeben.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.1 ml RPMI 1.640 + 10 % FCS.

Nach 72 h Beimpfung der Ansätze pro Loch mit je $0.075 \mu\text{Ci}$ C-14-Thymidin.

Nach 90 h Ernte der Kulturen analog zum Lymphozytentransformationstest (2.2.3.).

Anschließend Messung der Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler.

Zweite Methode

(mod. Erste Methode)

Lymphotoxingewinnung, Targetzellen, Beimpfung, Ernte und Radioaktivitätsmessung erfolgt entsprechend zur Ersten Methode.

Bei der Durchführung Vornahme der folgenden Änderung:

Nach 48 h Lymphotoxinzugabe: Nach Verwerfen des alten Mediums werden pro Loch 0.1 ml Überstand plus 0.1 ml RPMI 1.640 + 10 % FCS zugegeben.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.2 ml RPMI 1.640 + 10 % FCS.

Dritte Methode

(nach TILKES, 1977)

Lymphotoxingewinnung, Targetzellen, Beimpfung, Ernte und Radioaktivitätsmessung wie oben beschrieben. Einstellung der Targetzellen auf $1.5 \times 10^4/\text{ml}$.

Änderungen bei der Durchführung:

Zunächst 0.1 ml von der HELA-Zellsuspension (1.5×10^3 Zellen)

pro Loch der Mikrotiterplatte pipettieren. Die Zellen dann bei 37° C für 3 Tage in CO₂-begasten Glasgefäßen inkubieren.

Nach 2 h Lymphotoxinzugabe: Zum alten Medium werden pro Loch 0.1 ml Überstand zugegeben.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.1 ml RPMI 1.640 +
10 % FCS.

Nach 48 h Beimpfung der Ansätze.

Nach 72 h Ernte der Kulturen und anschließend Radioaktivitätsmessung.

Vierte Methode

(nach SMITH et al., 1977)

Lymphotoxingewinnung, Beimpfung, Ernte und Radioaktivitätsmessung wie oben beschrieben.

Als Targetzellen dienen in RPMI 1.640 + 10 % FCS kultivierte DBA/2-Maus-Lymphom-Zellen. Sie werden auf 5×10^4 /ml eingestellt.

Änderungen bei der Durchführung:

Zunächst 0.1 ml von der DBA/2-Zellsuspension ($= 5 \times 10^3$ Zellen) pro Loch der Mikrotiterplatte pipettieren.

Gleichzeitig Lymphotoxinzugabe: Pro Loch werden

0.1 ml Überstand zugegeben.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.1 ml RPMI 1.640 +
10 % FCS.

Die Zellen dann bei 37° C für 24 h in CO₂-begasten Glasgefäßen inkubieren.

Nach 20 h Beimpfung der Ansätze.

Nach 24 h Ernte der Kulturen und anschließend Radioaktivitätsmessung.

Auswertung:

Zunächst werden von jeweils 6 - 8 Proben die arithmetischen Mittelwerte der C-14-Thymidin-Einbauraten in cpm von den mit Kontroll-Überständen beschickten Targetzellen ($= \bar{x}_K$) und von den mit PHA-Überständen beschickten Targetzellen ($= \bar{x}_{PHA}$) bestimmt.

Daraus läßt sich dann der sogenannte Lymphotoxinindex ermitteln, der ein prozentuales Maß für die PHA-induzierte Lymphotoxinproduktion darstellt (PETER et al., 1976, SMITH et al., 1977).

$$\text{LT - Index} = \left(1 - \frac{\bar{x}_{\text{PHA}} \text{ (cpm)}}{\bar{x}_k \text{ (cpm)}} \right) \times 100$$

2.2.5. Targetzellenvitalitätsprüfung

Trypanblau-Test

Vor Kulturbeginn werden 0.05 ml von der HELA-Zellsuspension mit 0.2 ml NaCl und 0.05 ml Trypanblaulösung (0.5 % in PBS) vermischt. Nach einer Minute Bestimmung des Prozentsatzes der blaugefärbten (= membrangeschädigt) Zellen in einer Zählkammer. Der Anteil dieser Zellen soll weniger als 5 % betragen.

C-14-Thymidin-Einbaurate

Um in Kulturen den Einfluß von frischem und verbrauchtem Kulturmedium auf die proliferative Aktivität von HELA-Zellen zu untersuchen, wird verbrauchtes Kulturmedium von in Petrischalen kultivierten HELA-Zellen verschiedenen Alters erneut auf frisch angesetzte HELA-Zellkulturen in Mikrotiterplatten gegeben.

Bestimmung des Prozentsatzes der noch erhaltenen Zellen anhand der C-14-Thymidin-Einbaurate.

Durchführung:

Alle Schritte unter sterilen Kautelen. Von jedem Ansatz werden 6 - 8 Proben erstellt.

Zunächst 0.1 ml von der HELA-Zellsuspension (= 5×10^3 Zellen)

pro Loch der Mikrotiterplatte pipettieren. Die Zellen dann bei 37° C für 4 Tage in CO₂-begasten Glasgefäßen inkubieren. Nach 24 h Mediumwechsel mit 0.2 ml frischem RPMI 1.640 + 10 % FCS.

Nach 48 h nach Verwerfen des alten Mediums Zugabe von 2, 3 und 6 Tage altem Kulturmedium.

A: Zugabe von 0.1 ml altem Kulturmedium pro Loch ohne frischem Medium.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.1 ml RPMI 1.640 + 10 % FCS.

B: Zugabe von 0.1 ml altem Kulturmedium pro Loch plus 0.1 ml frischem Medium.

100%-Kontrolle: Zugabe von 0.2 ml RPMI 1.640 + 10 % FCS.

Nach 72 h Beimpfung der Ansätze pro Loch mit je 0.075 μ Ci C-14-Thymidin.

Nach 90 h Ernte der Kulturen analog zum Lymphozytentransformationstest (2.2.3.).

Anschließend Messung der Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler.

Auswertung:

Zunächst werden von jeweils 6 - 8 Proben die arithmetischen Mittelwerte der C-14-Thymidin-Einbauraten in cpm von den mit Kulturmedium verschiedenen Alters beschickten Targetzellen und von den mit nur frischem Medium beschickten Zellen (= 100%-Kontrolle) bestimmt.

Daraus dann Ermittlung des Prozentsatzes der noch erhaltenen HELA-Zellen im Bezug zur 100%-Kontrolle.

2.2.6. FHG Markierung (DESAGA, 1974, 1975, 1978)

Prinzip:

Substratspezifische zytochemische Markierung des äußeren Anteils des integralen Proteins der Plasmamembran mit Fe(III)-Hydroxyd-Glykan (-Saccharose) = FHG (Ferrophor hat identische Eigenschaften und wurde alternativ verwendet) durch Darstellung der kationischen Ladungsträger dieser Membrankomponente.

Durchführung:

Verwendung der leukozytenreichen Zellsuspension (2.2.2.); alle Schritte bei 0° C.

Inkubation der Zellen mit 0.01 ml FHG ad 1 ml HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen und anschließend Zellen in 0.05 ml Neoplasmagel resuspendieren.

Herstellen von Ausstrichpräparaten:

Einwandfreie Ausstrichpräparate (Blutfilme) mit gleichmäßig ausgebreiteten unbeschädigten Zellen wurden mit dem CORNING-Spinner hergestellt (MEGLA, 1975).

Anschließend nach Luftrocknung Fixierung und Sulfid-Silber-Reaktion durchführen.

Fixierung

DMF/G-Fixierlösung:

1%iges (v/v) Glutaraldehyd in N,N-Dimethylformamid (DMF) (-30° C). Fixierlösung täglich frisch ansetzen.

Durchführung:

Nach Fixieren in DMF/G (30 - 60 sec) kurz in DMF (-30° C). Anschließend spülen in physiologischer NaCl (0° C) und kurz vor dem Ventilator trocknen.

Sulfid-Silber-Reaktion (mod. n. TIMM, 1958, PIHL, 1967)

Prinzip:

Die Eisenkomponente des gebundenen FHG wird zu unlöslichem

Eisensulfid reduziert. Dieses stellt den Keim für Silberablagerungen nach Art eines physikalischen Entwicklers dar. Sulfidierung:

Reagenzien: Hämaccel	10.0 ml
Ammoniumsulfid	0.2 ml
Schwefelsäure 1 n	0.8 ml

Einstellung des pH's auf 7.0 mit 1 n Schwefelsäure.

Durchführung:

Einstellen der Präparate für 1 min, spülen in Hämaccel und anschließend in aqua dest.

Entwicklung:

Reagenzien: Lösung A, 7.5 ml:

10%iges Polyviol in 40%iger Sorbitlösung. Im Wasserbad unter Erhitzen lösen. Nach 24 h mit 3%iger Borsäure in 40%iger Sorbitlösung auf pH = 4.0 einstellen.

Lösung B, 2.0 ml:

Hydrochinon	400 mg
Borsäure	10 mg
Aqua dest. ad	10 mg

Lösung C:

7.5%iges AgNO_3	0.5 ml
--------------------------	--------

Lösung A und B gut mischen, Lösung C hinzufügen und sorgfältig ohne Luftblasen bis schlierenfrei verrühren.

Durchführung:

Präparate in 20-ml-Küvetten im Dunkeln (20°C , 30 min) inkubieren, abspülen in destilliertem Wasser und anschließend mit verdünnter Giemsa-Lösung gegenfärben (0.1 ml Giemsa-Lösung, 10 ml Weise-Puffer, 0.4 ml Hydrochinon 4 %).

Auswertung:

Die Präparate wurden lichtmikroskopisch (AXIOMAT) beurteilt, wobei jeweils 200 Lymphozyten ausgezählt wurden. Die Differenzierung der Zelltypen erfolgte entsprechend dem morphologischen FHG-Markierungsmuster.

2.2.7. Immunglobulin Markierung

Die immunzytochemischen Markierungen wurden mit der unmarkierten Antikörper-Enzym-Methode (STERNBERGER, 1974) durchgeführt.

Prinzip:

Das Antigen wird durch ein spezifisches Antiserum vom Kaninchen lokalisiert. Im zweiten Schritt wird mit Anti-Kaninchen-IgG vom Schwein inkubiert. Im dritten Schritt bindet sich daran ein Kaninchen-Peroxydase-Antiperoxydase-Komplex.

Durchführung:

Verwendung der leukozytenreichen Zellsuspension (2.2.2.);
alle Schritte bei 0° C.

Inkubation der Zellen mit Kaninchen-Anti-Human-Immunglobulin-Antiserum 1 : 40 in HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen.

Inkubation mit Schweine-Anti-Kaninchen-Serum 1 : 20 in HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen.

Inkubation mit Peroxydase-Antiperoxydase-Komplex 1 : 20 in HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen.

Resuspendieren der Zellen in 0.05 ml Neoplasma gel und Ausstrichpräparate (2.2.6.) herstellen.

Peroxydasereaktion (mod. n. GRAHAM und KARNOVSKY, 1966):

Inkubationsmedium:

3,3-Diaminobenzidin-Hydrochlorid	7.5 mg
----------------------------------	--------

3%iges frisch hergestelltes H ₂ O ₂	0.1 ml
---	--------

0.1 n Na-Borat/HCl-Puffer, pH = 7.6 - 7.8	10.0 ml
---	---------

Inkubation: 10 min bei 24° C.

Anschließend Abspülen mit Leitungswasser und Kernfärbung mit Hämalaun.

Auswertung:

Es wurden jeweils 200 Lymphozyten lichtmikroskopisch ausgezählt. Im Zytoplasma der MIG-positiven Zellen zeigen sich braune, homogene oder körnige Granula.

2.2.8. FHG/Immunglobulin Doppelmarkierung

Prinzip:

FHG-positive Membranstrukturen und Membran-Antigen-Determinanten werden am gleichen Präparat dargestellt.

Durchführung:

Verwendung der leukozytenreichen Zellsuspension (2.2.2.); alle Schritte bei 0° C.

Inkubation der Zellen mit 0.01 ml FHG ad 1 ml HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen.

Inkubation mit Kaninchen-Anti-Human-Immunglobulin-Antiserum 1 : 40 in HBS für 60 min bei 0° C.

Zweimal in HBS waschen.

Resuspendieren der Zellen in 0.05 ml Neoplasmagel und Ausstrichpräparate (2.2.6.) herstellen.

Aufarbeitung:

Prinzip:

Der weitere Antigennachweis erfolgt an Ausstrichpräparaten (MASON et al., 1975).

DMF/G-Fixierung (2.2.6.) und kurz trocknen.

Sulfid-Silber-Reaktion (2.2.6.).

Aufpipettieren von Schweine-Anti-Kaninchen-Serum 1 : 20 in HBS für 30 min. Dann spülen in HBS.

Aufpipettieren von Peroxydase-Antiperoxydase-Komplex 1 : 20 in HBS plus 1 % normalem Schweineserum für 30 min. Dann spülen in TRIS-Saline (TRIS-HCl-Puffer, 0.05 M, pH = 7.6, : Saline = 1 : 10).

Peroxydase-Reaktion (2.2.7.).

Abspülen mit Leitungswasser und Kernfärbung mit Hämalaun.

Auswertung:

Sie erfolgte entsprechend der FHG Markierung (2.2.6.), bzw. der Immunglobulin Markierung (2.2.7.).

2.2.9. E-Spontanrosetten

Prinzip:

Lymphozyten bilden Spontanrosetten mit Schafserythrozyten. Bestimmung des Prozentsatzes der rosettenbildenden Zellen (JONDAL et al., 1972).

Zellsuspensionen:

Lymphozytenreiche Zellsuspension (2.2.2.) auf 5×10^6 Zellen/ml einstellen und in HANKS-Lösung suspendieren.

Schafserythrozyten in ALSEVERS-Lösung (bei 4° C lagern, nicht älter als 14 Tage) viermal in HANKS-Lösung waschen und anschließend mit Neuraminidase (50 U/ml) 15 min bei 24° C inkubieren. Dann zweimal in HANKS-Lösung waschen und auf 5×10^8 Zellen/ml einstellen.

Durchführung:

Instabile E-Rosetten:

0.1 ml von der Lymphozyten- und 0.1 ml von der Erythrozyten-suspension zusammen im Eppendorfgefäß 5 min bei 37° C inkubieren. Anschließend 5 min bei 1 000 rpm in der Kühlzentrifuge (0° C) zentrifugieren und 24 h ohne zu resuspendieren bei 5° C inkubieren. Nach Verwerfen des Überstandes die Zellen vorsichtig in 0.02 ml Neoplasmagel resuspendieren. Dann einen Tropfen dieser Zellsuspension auf Objektträger pipettieren, mit Deckgläschen abdecken und sofort Rosetten auszählen.

Stabile E-Rosetten:

Zusatz von 0.1 ml Ficoll 10 % in HANKS-Lösung zum obigen Inku-

bationsmedium (0.1 ml Lymphozyten- plus 0.1 ml Erythrozyten-suspension). Nach Inkubation (5 min bei 27° C) und Zentrifugieren (5 min mit 1 000 rpm bei 0° C) ohne zu resuspendieren Inkubation mit Eisbad für 1 Stunde. Danach 1 ml Glutaraldehyd 0.75 % v/v HANKS-Lösung hinzupipettieren und 20 min bei 0° C fixieren. Anschließend Überstand absaugen bis über dem Pellet noch ca. 0.05 ml und dann vorsichtig resuspendieren. 1 Tropfen Neoplasmagel hinzufügen und im CORNING-Spinner Ausstriche anfertigen. Nach Lufttrocknung mit Hämalaun gegenfärben.

Auswertung:

Ausgezählt wurden jeweils 200 Zellen. Bestimmung des Prozentsatzes der rosettenbildenden Lymphozyten. Die Bindung von mindestens drei Erythrozyten pro Lymphozyt wird als Rosette bezeichnet.

2.3.0. Statistische Bearbeitung

2.3.1. Graphische Darstellung

Die graphische Darstellung der Häufigkeitsverteilungen der ermittelten Daten und Werte erfolgte anhand sogenannter "Säulen". Dabei wurden die jeweiligen "Normalbereiche" (arithmetisches Mittel plus/minus Standardabweichung = $\bar{x} \pm s$), resultierend aus Untersuchungen an Normalpersonen, schraffiert eingetragen. Dieses Vorgehen ist streng statistisch gesehen nicht vollkommen exakt, da man bei empirisch ermittelten Häufigkeitsverteilungen nicht unbedingt davon ausgehen kann, daß sie einer Normalverteilung folgen. Die einzelnen Daten der jeweiligen Schockpatienten wurden im Gegensatz dazu entsprechend als Punkte dargestellt.

Dabei wurden zwei verschiedenartige Darstellungsformen gewählt:

Einmal die zeitlich rein statischen Abbildungen, wo Verteilungen zu ganz bestimmten Zeitpunkten aufgeführt sind und auf

die Angabe sogenannter Lokalisationsparameter verzichtet wurde.

Zum anderen die zeitlichen Verlaufskontrollen, wo Häufigkeitsverteilungen über Tage, bzw. Stunden dargestellt sind. Hier wurden die entsprechenden Lokalisationsparameter eingezeichnet, denn durch graphische Verbindung dieser zentralen Tendenzpunkte kommt es zur Abbildung von Kurvendiagrammen, mit deren Hilfe die zeitliche Kinetik besser zum Ausdruck gebracht wird.

Als Lokalisationsparameter wurden bei der Darstellung von absoluten Häufigkeiten der arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$), bei relativen (= prozentualen) Häufigkeiten der Median ($x_{0.5}$) und bei logarithmischer Darstellung das geometrische Mittel (g) verwendet.

Arithmetisches Mittel:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Geometrisches Mittel:

$$g = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 \cdot \dots \cdot x_n}$$

Median:

$$x_{0.5} = x_{(n+1)/2} \quad \text{wenn } n \text{ ungerade}$$

$$x_{0.5} = \frac{1}{2} \left[x_{(n/2)} + x_{(n/2 + 1)} \right] \quad \text{wenn } n \text{ gerade}$$

Standardabweichung:

$$s = \sqrt{2 \frac{(\sum x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Bei beiden Abbildungsformen wurden für ausgewählte Fälle die statistischen Signifikanzen, bzw. Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) aufgeführt. Bei den zeitlich rein statischen Darstellungen wurde in den entsprechenden Säulen angegeben, ob sich die ermittelten Verteilungen von Normalpersonen und Schockpatienten zu bestimmten Zeiten signifikant unterscheiden. Bei den kinetischen Abbildungen wurden die Daten der Schockpatienten untereinander zu verschiedenen Zeitpunkten verglichen, gekennzeichnet durch entsprechende Doppelpfeile bei signifikanten Unterschieden.

Auf die Angaben der Standardabweichung, bzw. des Quartilsabstandes wurde, abgesehen von der Darstellung der "Normalbereiche" verzichtet, da diese bei den zum Teil relativ kleinen Schockpatientenkollektiven keine wirkliche statistische Aussagekraft besitzen.

Die Anzahl der Patienten, von denen die entsprechenden Daten in den Graphiken stammen, wurde immer durch "n" angegeben. Hierbei fällt auf, daß desöfteren weniger Merkmale in den einzelnen Säulen dargestellt sind als dem jeweiligen "n" entsprechend. Dies liegt daran, daß es nicht immer möglich war, zu den entsprechenden Zeitpunkten auch die adäquaten Untersuchungen anzustellen.

2.3.2. Beurteilung der Abbildungen

"Der Mediantest dient zur Kontrolle hochsignifikanter Befunde, denen man nicht so recht traut" (SACHS, 1969). Im vorliegenden Fall wird mit ihm geprüft, ob zwei empirische (beobachtete) Häufigkeitsverteilungen (Normalpersonen - Schockpatienten zu

bestimmten Zeiten, bzw. Schockpatienten - Schockpatienten zu verschiedenen Zeitpunkten) signifikant voneinander abweichen. Man ordnet alle Werte aus beiden Stichprobenumfängen der Größe nach aufsteigend und ermittelt den gemeinsamen Median ($x_{0.5}$). Dann ordnet man die Werte jeder Stichprobe danach ein, ob sie kleiner (gleich) oder größer als der gemeinsame Median sind, so daß man eine sogenannte Vierfeldertafel erhält. Wenn alle einzelnen Erwartungshäufigkeiten E_a , E_b , E_c und E_d größer als 3 sind sowie $n = n_1 + n_2$ größer als 20 (SACHS, 1969), wird χ^2 nach folgender Formel berechnet:

$$\chi^2 = \frac{n (ad - bc)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Diesbezüglich ergeben sich die Erwartungshäufigkeiten folgendermaßen:

$$E_a = \frac{(a+b)(a+c)}{n}$$

$$E_b = \frac{(a+b)(b+d)}{n}$$

$$E_c = \frac{(a+c)(c+d)}{n}$$

$$E_d = \frac{(b+d)(c+d)}{n}$$

Wenn n kleiner als 40 war, wurde die sogenannte "Yates'sche Kontinuitätskorrektur" angewandt (DUDECK, 1974), vorausgesetzt jede Erwartungshäufigkeit war größer als 3.

Sie berechnet sich wie folgt:

$$\chi^2 = \frac{n (ad - bc - n/2)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Die Entscheidung über Annahme, bzw. Ablehnung der Nullhypothese fällt durch den Vergleich des so berechneten χ^2 -Wertes mit der χ^2 -Tabelle (SACHS, 1969, Tab. 28), bei der jeweils gewählten Irrtumswahrscheinlichkeit p .

War eine der erwarteten Häufigkeiten kleiner als 3, wurde nach dem exakten Test von FISHER geprüft. Er wird folgendermaßen berechnet:

$$p \text{ (Tafel)} = \frac{(a+b)! (c+d)! (a+c)! (b+d)!}{n! a! b! c! d!}$$

Von der gegebenen Vierfeldertafel ausgehend bildet man alle Tafeln, die die gleichen Randsummen haben bei noch extremeren Besetzungszahlen und bestimmt die jeweiligen Wahrscheinlichkeiten p bis die kleinste Häufigkeit gleich Null wird. Zum Prüfen der Nullhypothese werden alle so ermittelten Wahrscheinlichkeiten aufaddiert und mit der vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit verglichen.

Bei Beurteilung der statistischen Signifikanz sind drei Niveaus (Irrtumswahrscheinlichkeiten) üblich, die 5%- , die 1%- und die 0.1%-Grenze. Ist p gleich oder kleiner als 5 % (0.05), so nennt man das Ergebnis "signifikant" oder "wahrscheinlich signifikant", ist p gleich oder kleiner als 1 % (0.01), dann heißt es "sehr signifikant", bzw. "sicher signifikant" (FREUDENBERG, 1962, SACHS, 1969, TRAXEL, 1974). Ist p größer als 5 % (0.05), dann ist das Resultat statistisch "nicht signifikant" (n. s.).

2.3.3. Beurteilung des Lymphotoxinnachweises

Beim Nachweis von Lymphotoxin wurden mehrere Methoden untereinander und miteinander verglichen, um in etwa einen Anhalt für die Zuverlässigkeit und bis zu einem gewissen Grad auch für die Gültigkeit der verschiedenen Verfahren zu bekommen. Im vorliegenden Fall findet als nichtparametrisches statistisches Verfahren der sogenannte Rangkorrelationskoeffizient von SPEARMAN (r_s) Verwendung. Grundsätzlich stünde auch noch die sogenannte Normalitätstransformation zur Verfügung (SMITH et al., 1977); mit beiden Ansätzen wird man dieselben Tendenzen aufzeigen können.

Zur Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten transformiert man jeweils die beiden Skalenreihen der vorliegenden LT-

Indices X und Y in sogenannte Rangreihen R_x und R_y durch entsprechende Zuordnung von Rangplätzen. Bei Ranggleichheit werden mittlere Plätze zugeordnet (SACHS, 1969, WALKER und LEV, 1975).

Der Koeffizient berechnet sich nach folgender Formel:

$$r_s = \frac{6 \cdot \sum d^2}{n (n^2 - 1)}$$

Dabei bedeuten:

n: Anzahl der in eine Rangordnung gebrachten Elemente

d: Differenz der dem gleichen Element zugeteilten Rangplätze.

Dieser Koeffizient r_s gibt über die jeweilige Höhe der Korrelation Aufschluß (zur Interpretation von r_s bei Reliabilität und Validität siehe unten).

Außerdem kann man die Signifikanz von r_s bestimmen; für $n \leq 30$ Wertepaare wird sie einer Tabelle entnommen, die die kritischen Werte r_s enthält (SACHS, 1969, Tab. 103).

Der Grad der Zuverlässigkeit einer Methode (Reliabilität) wird durch den sogenannten Zuverlässigkeitskoeffizienten ausgedrückt, den man durch die Bestimmung der Korrelation zwischen den Resultaten einer ersten und denen einer zweiten Messung an denselben Merkmalsträgern erhält. Von einer hohen Zuverlässigkeit kann man sprechen, wenn dieser Koeffizient etwa 0.8 bis 0.9 beträgt (TRAXEL, 1974). Bezüglich des Lymphotoxinnachweises bedeutet dies, daß sowohl das sogenannte erste als auch das zweite Verfahren zweimal bei jeweils den gleichen Patienten (Personen) und unter gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, um somit ein intramethodisches Maß für die Reliabilität dieser beiden Methoden zu erhalten. Zusätzlich erfolgte eine intermethodische Messung, indem das erste und zweite Verfahren miteinander, als auch zum Teil jeweils nochmal mit der dritten, bzw. vierten Methode verglichen wurden, wiederum bei gleichen Patienten (Personen) innerhalb der entsprechenden Vergleichsgruppen.

Gültigkeit (Validität) ist eine Beziehung zwischen zwei

Messungen (WALKER und LEV, 1974). Sie gibt das Ausmaß an, inwieweit ein Test tatsächlich das mißt, was er zu messen vorgibt (BECKMANN, 1974). Daher kann man, wenn auch mit Vorbehalt sagen, daß die oben erwähnten Vergleiche, besonders die intermethodischen, in einem gewissen Sinne auch einen Hinweis für die Validität des Lymphotoxinnachweises bieten. Der Grad der Validität wird ebenfalls mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten ausgedrückt (TRAXEL, 1974, WALKER und LEV, 1975). Ein Koeffizient der Größe 0.6 bis 0.7 wird diesbezüglich meistens als ausreichend betrachtet (TRAXEL, 1974).

3.0.0. BEFUNDE

3.1.0. Normalbefunde

Als "Normalbereiche" werden jeweils die arithmetischen Mittelwerte plus/minus der Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) angegeben (siehe hierzu 2.3.1.). Die entsprechenden Einzeldaten, woraus diese Werte resultieren, sind beim Autor einsehbar.

3.1.1. Lymphozytentransformationstest

Die Blutlymphozyten von insgesamt 35 Normalpersonen wurden untersucht. Es fanden sich folgende Normalbereiche.

Spontane Stimulation (Kontrolle): $\bar{x} = 150 \pm 50$ (cpm)

PHA-induzierte Stimulation (PHA): $\bar{x} = 6\ 900 \pm 2\ 300$

PHA-Index: $\bar{x} = 48 \pm 18$

3.1.2. Lymphotoxinnachweis

Erste und Zweite Methode

Bei der ersten Methode wurden die Blutlymphozyten von 25 Normalpersonen und bei der zweiten die von 20 untersucht. Folgende Normalbereiche ergaben sich (Tab. 2).

Tab. 2: Zwei Methoden zum Lymphotoxinnachweis.

	<u>Noch erhaltene Targetzellen (%)</u>		
	<u>LT-Index</u>	<u>Kontrolle</u>	<u>PHA</u>
<u>Erste Methode</u> n = 25	84 $\bar{+}$ 7.0	58 $\bar{+}$ 17	9.5 $\bar{+}$ 6.0
<u>Zweite Methode</u> n = 20	88 $\bar{+}$ 6.0	89 $\bar{+}$ 11	10.0 $\bar{+}$ 4.5
<u>Erste und Zweite Methode</u> n = 45	86 $\bar{+}$ 6.5	73 $\bar{+}$ 14	10.0 $\bar{+}$ 5.0

Um auch die Patienten in die Betrachtungen miteinzubeziehen, bei denen der Lymphotoxinnachweis noch nach der ersten Methode durchgeführt wurde, wurde als Normalbereich der Mittelwert aller LT-Indices aus beiden Methoden gewählt; zwischen beiden Verfahren besteht eine hohe Korrelation: $r = + 0.9125$, $p < 0.001$.

Dritte und vierte Methode

Aus Vergleichsgründen, um ein intermethodisches Maß für Reliabilität und Validität des Lymphotoxinnachweises zu erhalten, wurden noch diese beiden Verfahren angewandt. Die hierbei gefundenen Werte stellen allerdings keine Normalbereiche dar, denn es wurden die Blutlymphozyten von verschiedenen Schockpatienten verwendet. Bei der dritten Methode wurden 14 und bei der vierten Methode 8 Patienten untersucht. Es fanden sich folgende Befunde (Tab. 3).

Tab. 3: Zwei weitere Verfahren zum Lymphotoxinnachweis bei Schockpatienten.

	<u>Noch erhaltene Targetzellen (%)</u>		
	<u>LT-Index</u>	<u>Kontrolle</u>	<u>PHA</u>
<u>Dritte Methode</u> n = 14	56 $\bar{+}$ 19	93 $\bar{+}$ 18	43 $\bar{+}$ 22
<u>Vierte Methode</u> n = 8	32 $\bar{+}$ 9	70 $\bar{+}$ 17	46 $\bar{+}$ 8

Intra- und intermethodische statistische Vergleiche beim Lymphotoxinnachweis

Als statistisches Maß dient der Rangkorrelationskoeffizient von SPEARMAN r_s (siehe 2.3.3.).

a. Wiederholung der ersten Methode (n = 15):

$$r_s = + 0.9527, p < 0.001.$$

b. Wiederholung der zweiten Methode (n = 25):

$$r_s = + 0.9595, p < 0.001.$$

c. Vergleich von erster und zweiter Methode (n = 15):

$$r_s = + 0.9125, p < 0.001.$$

d. Vergleich von erster und dritter Methode (n = 10):

$$r_s = + 0.8697, p < 0.001.$$

e. Vergleich von zweiter und vierter Methode (n = 5):

$$r_s = + 0.4750, n. s.$$

3.1.3. Targetzellenvitalitätsprüfung

C-14-Thymidineinbaurate

Vitalität in Abhängigkeit vom Alter des verbrauchten Kulturmediums ohne (A) und mit (B) Zugabe von frischem Kulturmedium (Tab. 4).

Tab. 4: Proliferative Aktivität von HELA-Zellen.

Alter des Kulturmediums (Tage) Noch erhaltene HELA-Zellen (%)

	<u>A</u>	<u>B</u>
2	78	78
3	75	69
6	72	64

Als Nebenbefund wurde bei den 100%-Kontrollen festgestellt, daß auch die quantitative Menge des zugegebenen Kulturmediums einen Einfluß auf die Vitalitätsrate der HELA-Zellen ausübt. Wenn man zum Beispiel bei Zugabe von 0.2 ml frischem Kulturmedium die noch nach 48 h erhaltenen HELA-Zellen gleich 100 % setzt, so erhält man bei Zugabe von nur 0.1 ml frischem Medium lediglich noch eine Einbaurate von 80 %.

3.1.4. FHG Markierung

Immunglobulin Markierung

FHG/Immunglobulin Doppelmarkierung

Bei der FHG Markierung sind beim "Normalen" praktisch alle Lymphozyten (96 ± 3 %) durch granuläre, unterschiedlich geformte Silberablagerungen markiert. Rund 4 % sind unmarkiert.

Die Anordnung der Ablagerungen auf der Zellmembran läßt abhängig von Menge, Größe und Verteilung charakteristische Markierungsmuster entstehen.

Zwei Markierungsmuster sind zu unterscheiden:

Etwa 4/5 der Lymphozyten (84 %) weisen eine grobgranuläre, oft länglich geformte Ablagerung von gruppenförmig, dicht beieinanderliegenden Silberkörnchen auf (clusterförmiger Markierungstyp) (Abb. 1, 2).

Der Rest der markierten Zellen (12 %) zeigt eine relativ gleichförmig über das Zytoplasma verteilte feinkörnige und insgesamt schwächere Markierung (diffuser Markierungstyp) (Abb. 3).

Bei simultaner Darstellung FHG positiver Strukturen und von Immunglobulindeterminanten zeigen Lymphozyten des diffusen Markierungstyps M-Ig-positive Membranstrukturen (Abb. 3), entsprechend B-Lymphozyten. Clusterförmig markierte Zellen sind M-Ig-negativ, analog T-Lymphozyten; sie bilden E-Spontanrosetten.

Bei den T-Zellen lassen sich nach der Zellgröße drei Gruppen unterscheiden (Abb. 4) (Tab. 1).

Die kleinen Lymphozyten von etwa Erythrozytengröße, die mittelgroßen Lymphozyten mit einer Größe zwischen der der kleinen Lymphozyten und der eines Granulozyten, sowie die großen lymphoiden Zellen.

Nach FHG Markierung können bei den kleinen Lymphozyten fünf Markierungstypen unterschieden werden. Unmarkierte (O_k) (Abb. 1, A_1), schwach markierte (C^+) (A_2), mittelstark markierte (C^{++}) (A_3), stark clusterförmig markierte (C^{+++}) (A_4) und die Form der grobgranulär markierten Zellen (A^+) (C_1).

Die mittelgroßen Lymphozyten werden unterschieden in stark clusterförmig markierte mit patchartiger Umverteilung (C^{+++}_p) (B_1), in mittelgroße unregelmäßig clusterförmig markierte (C^{++}_s) (B_2) und in mittelgroße Zellen mit weitem Zytoplasma (C^+_w) (B_3).

Die großen lymphoiden Zellen sind nur unter pathologischen

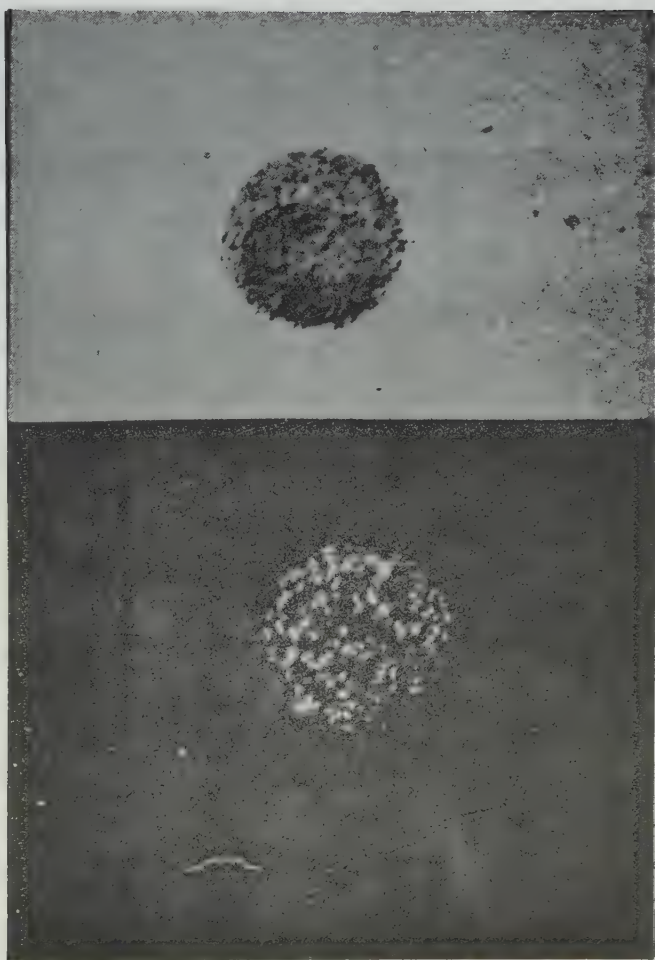


Abb. 1: FHG Markierung eines M-Ig-negativen Lymphozyten. Aktivierte Zelle vom A⁺-Typ.

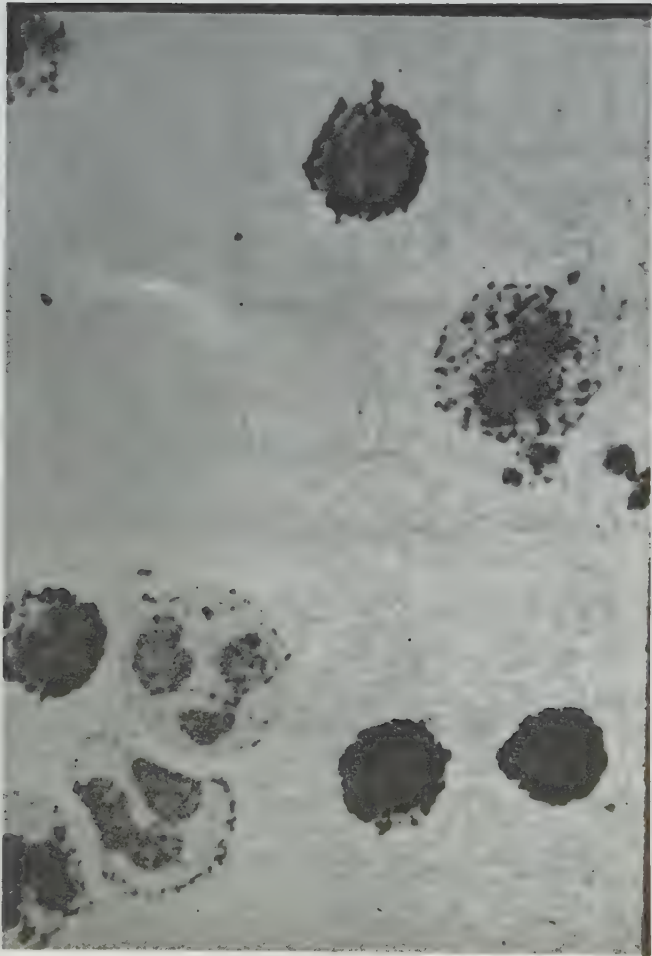


Abb. 2: FHG Markierung M-Ig-negativer Lymphozyten.
Cortisonresistente Zellen vom C⁺⁺⁺-Typ.

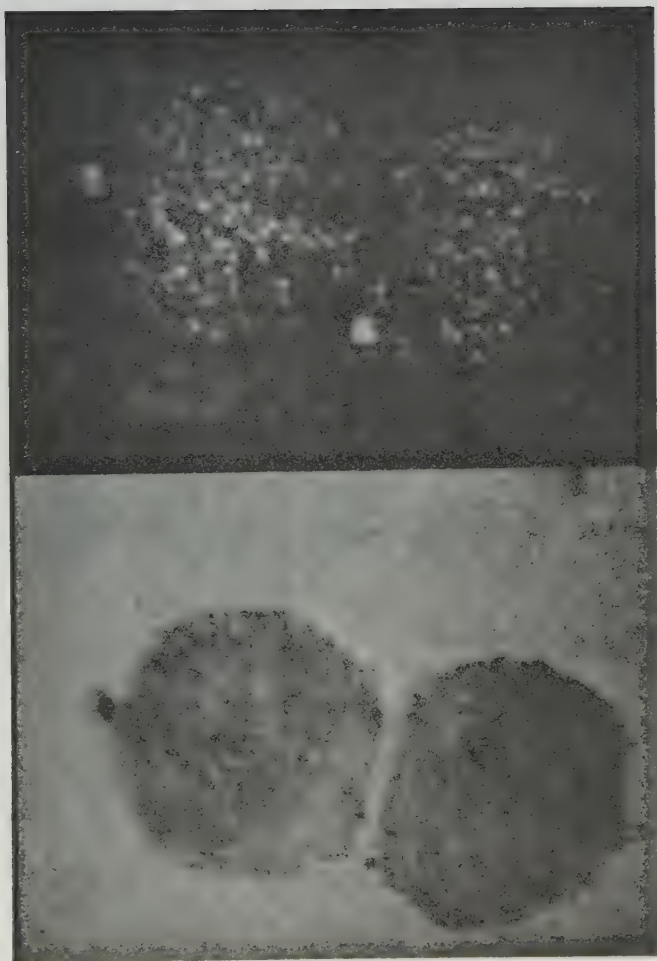


Abb. 3: FHG/M-Ig-Doppelmarkierung.

Braunes Reaktionsprodukt bei positiver Peroxydase-
reaktion. Diffuse feinkörnige FHG Markierung mit
M-Ig-positiver Membranstruktur.



Abb. 4: Schematische Darstellung der FHG Differenzierung M-Ig-negativer Lymphozyten (nach DESAGA, 1978).
G: Granulozyt, E: Erythrozyt.

Tab. 1: Lymphozytenpopulationen bei FHG-Differenzierung
(FHG/Ig-Doppelmarkierung) (mod. n. DESAGA, 1978).

C^+ bis O_k sind M-Ig-negative,
D und C sind M-Ig-positive Lymphozyten.

n = 25 Normalpersonen.

Lymphozyten: $\bar{x} = 2\ 100 \pm 900$ (absolut).

<u>FHG-Differen-</u> <u>zierung</u>	<u>$\bar{x}$ (%)</u>	<u>$\bar{x}$ (absolut)</u>
C^+	27.0 $\pm$ 7.0	570 $\pm$ 150
C^{++}	41.0 $\pm$ 9.0	890 $\pm$ 200
C^{+++}	11.0 $\pm$ 5.0	240 $\pm$ 110
C^{+++}_p	0.5 $\pm$ 1.0	10 $\pm$ 20
C^{++}_s	1.5 $\pm$ 1.5	30 $\pm$ 30
C^+_w	1.5 $\pm$ 1.5	30 $\pm$ 30
W	0.0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0
A^+	1.0 $\pm$ 1.0	20 $\pm$ 20
A^{++}	0.0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0
B	0.0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0
O_g	0.0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0
O_k	4.0 $\pm$ 3.0	80 $\pm$ 60
D	12.0 $\pm$ 4.0	250 $\pm$ 80
C	0.5 $\pm$ 1.0	10 $\pm$ 20

Umständen im peripheren Blut zu beobachten. Es werden große transformierte aktivierte (A^{++}) (C_2), unmarkierte große (O_g) (B_4), blastenähnlich transformierte (B) (C_3) und große weitplasmatische Lymphozyten (W) (C_4) differenziert.

Die FHG Differenzierung M-Ig-negativer Zellen (= T-Lymphozyten) zeigt, daß beim "Normalen" drei Populationen das morphologische Bild bestimmen: C^{+-} , C^{++-} und C^{+++} -Zellen.

Alle anderen Formen, bis auf die kleinen unmarkierten Lymphozyten (O_k), sind selten zu finden.

3.1.5. E-Spontanrosetten

Untersucht wurden die Blutlymphozyten von 20 Normalpersonen. Es ergaben sich die folgenden Normalbefunde.

Absolut: $\bar{x} = 1\ 400 \pm 500$

Relativ: $\bar{x} = 62 \pm 10 (\%)$

3.2.0. Schockinduzierte Auswirkungen

3.2.1. Beeinflussung der funktionellen Kapazität

Untersucht wurden insgesamt 44 Patienten mit zum Teil beginnenden, meist jedoch manifesten, schweren Schockzuständen bei Myokardinfarkten, Intoxikationen und septischen Krankheitsbildern.

Abb. 5 a zeigt die Ausgangsbefunde aller untersuchten Patienten vor Einsetzen einer eventuellen Cortisontherapie. Sie sind unabhängig von dem anschließenden klinischen Verlauf dargestellt. Im Lymphozytentransformationstest weisen die Kontrollwerte (spontane Stimulation) eine sehr große Spannweite von 30 cpm bis 1 700 cpm auf, die eine eindeutige Aussage bezüglich ihres Verhaltens nicht erlaubt (n. s.). Dagegen ist die mitogene Reaktivität gegenüber PHA in fast allen Fällen auffällig gehemmt ($p < 0.001$), was auch durch die größtenteils erniedrigten PHA-Indices zum Ausdruck gebracht wird ($p < 0.001$).

Die Lymphotoxinproduktion weist eine große Schwankungsbreite von 1 bis 97 auf; auch sie ist signifikant vermindert ($p < 0.001$).

Klinischer Verlauf

Um eine mögliche Abhängigkeit des weiteren klinischen Verlaufs von den funktionellen Ausgangswerten im Schock zu erhalten, wurde retrospektiv eine Gruppe mit anschließend günstigem klinischen Verlauf zusammengefaßt (Abb. 5 b), und der eine zweite mit sogenanntem ungünstigen Verlauf gegenübergestellt (Abb. 5 c).

Die Kontrollwerte (spontane Stimulation) im Transformations-test weisen in beiden Gruppen (Abb. 5 b, c) eine große Streubreite auf, wobei aber in der zweiten Gruppe (Abb. 5 c) die Einbauraten doch erhöht erscheinen, ohne daß dies signifikant ist.

Die PHA-induzierte Transformationsfähigkeit liegt demgegenüber

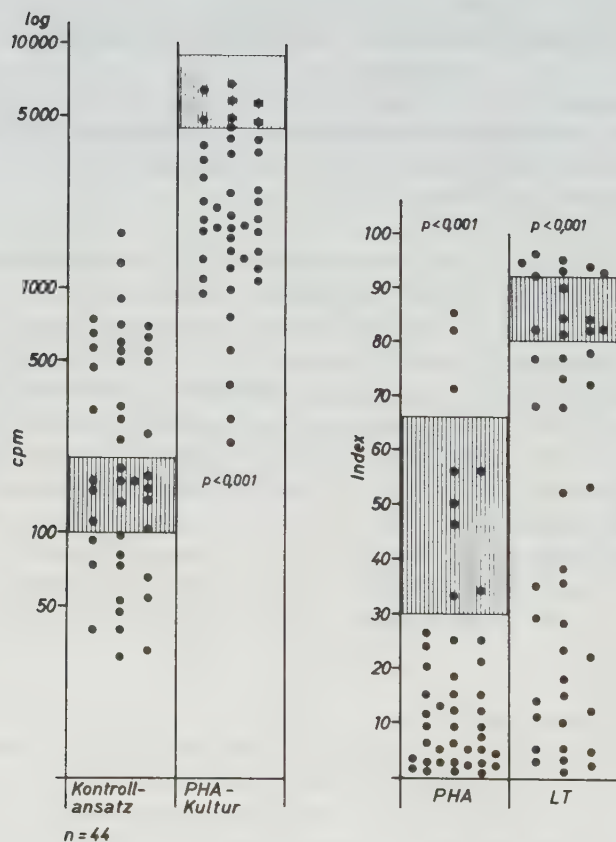


Abb. 5 a: Schockinduzierte Ausgangskonstellationen:
Spontane (Kontrollansatz) und PHA-induzierte
Stimulation peripherer Lymphozyten.
PHA- und Lymphotoxinindex.
Bei unbehandelten Fällen.

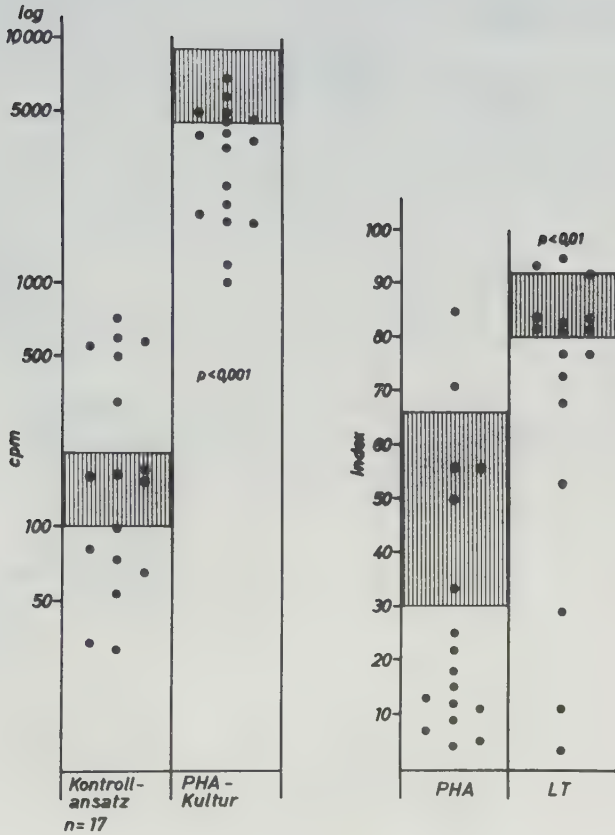


Abb. 5 b: Schockinduzierte Ausgangskonstellationen:
Spontane (Kontrollansatz) und PHA-induzierte
Stimulation peripherer Lymphozyten.
PHA- und Lymphotoxinindex.
Bei späterem günstigen klinischen Verlauf.

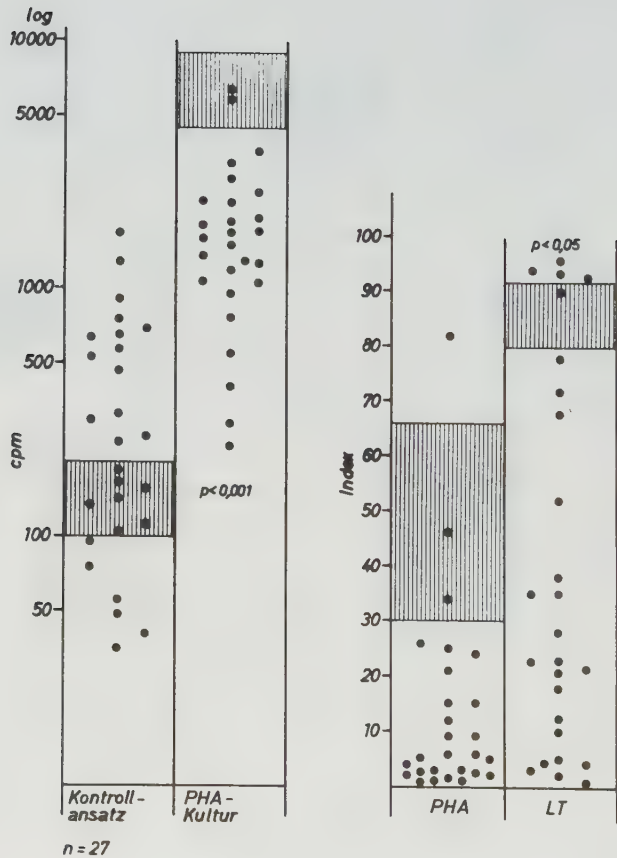


Abb. 5 c: Schockinduzierte Ausgangskonstellationen:
 Spontane (Kontrollansatz) und PHA-induzierte
 Stimulation peripherer Lymphozyten.
 PHA- und Lymphotoxinindex.
 Bei späterem ungünstigen klinischen Verlauf.

in der ersten Gruppe (Abb.5 b) im unteren Grenzbereich (60 % der Werte unter 4 000 cpm, $p \leq 0.001$), während sie in der zweiten Gruppe (Abb. 5 c) noch deutlicher gehemmt ist (über 90 % der Werte unter 4 000 cpm, $p \leq 0.001$).

Auffällig sind auch die Ergebnisse bezüglich Lymphotoxinproduktion und klinischem Verlauf. In der ersten Gruppe liegen nur 30 % der LT-Indices unter 70 ($p \leq 0.01$), während in der zweiten Gruppe die Lymphotoxinproduktion in fast allen Fällen klar herabgesetzt ist (über 70 % der Werte unter 70, $p \leq 0.05$).

3.2.2. Beeinflussung des Subpopulationsspektrums

Untersucht wurden insgesamt 33 Patienten mit zum Teil beginnenden, meist jedoch manifesten schweren Schockzuständen bei Myokardinfarkten, Intoxikationen und septischen Krankheitsbildern.

Abb. 6 zeigt die Ausgangsbefunde vor Einsetzen einer eventuellen Cortisontherapie. Sie sind unabhängig von der Dauer des Schockereignisses aufgeführt.

Zytologische Befunde (Abb. 6)

Die peripheren Lymphozytenwerte weisen eine sehr große Schwankungsbreite auf (von 400 bis 6 300/mm³), die eine eindeutige Aussage ihres Verhaltens (Lymphozytopenie oder -zytose) nicht ermöglicht (n. s.).

Der Anteil von M-Ig-positiven Zellen ist bis auf wenige deutlich verringert ($p \leq 0.001$). Ebenso findet sich eine Erniedrigung der E-Rosetten-bildenden Lymphozyten ($p \leq 0.001$).

FHG Markierung (Abb 6)

Bei der FHG-Differenzierung fällt in fast allen Fällen eine Verminderung der "normalen" Hauptpopulationen C^+ , C^{++} und C^{+++} auf, besonders von C^+ und C^{++} (C^+ , C^{++} : $p \leq 0.001$; C^{+++} :

$p < 0.05$). Demgegenüber steht die auffällige Zunahme der Aktivierungsformen A^+ , A^{++} ($p < 0.001$) und B ($p < 0.01$) sowie der O_g -Zellen ($p < 0.01$).

Schockinduzierte Kinetik (Abb. 7a, b, c)

Um eine mögliche Abhängigkeit der Zellverschiebungen vom Stadium (akut, protrahiert) des Schockbildes zu erhalten, erfolgte eine Aufschlüsselung nach der Zeitdauer, die zwischen dem Einsetzen der Schocksymptomatik und der ersten Untersuchung verstrichen war:

Nach 0 - 48 Stunden, nach 3 - 10 Tagen und nach mehr als 10 Tagen.

In der Frühphase (Abb. 7 a, 0 - 48 h) zeigt sich lediglich eine leichte Vermehrung der A^+ -Zellen ($p < 0.01$), während die übrigen Subpopulationen statistisch nicht signifikant vom Normbereich abweichen.

Nach 3 - 10 Tagen (Abb. 7 b) fällt eine deutliche Verminderung der Hauptpopulationen C^+ ($p < 0.05$) und C^{++} ($p < 0.001$) auf; außerdem treten zunehmend mehr aktivierte Zellformen auf: A^+ und A^{++} ($p < 0.001$), O_g ($p < 0.01$) und B ($p < 0.05$). Diese Tendenz der Abnahme der "normalen" und Zunahme der "pathologischen" Zellen hält auch in der Spätphase (Abb. 7 c, nach mehr als 10 Tagen) an: C^{++} , A^{++} und B ($p < 0.001$) sowie C^+ und A^+ ($p < 0.01$).

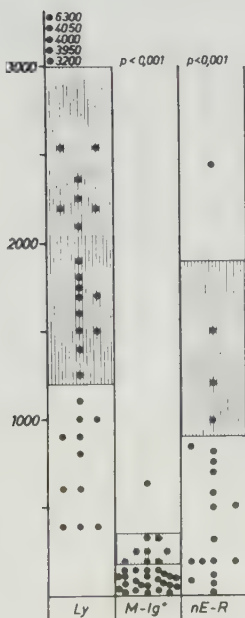
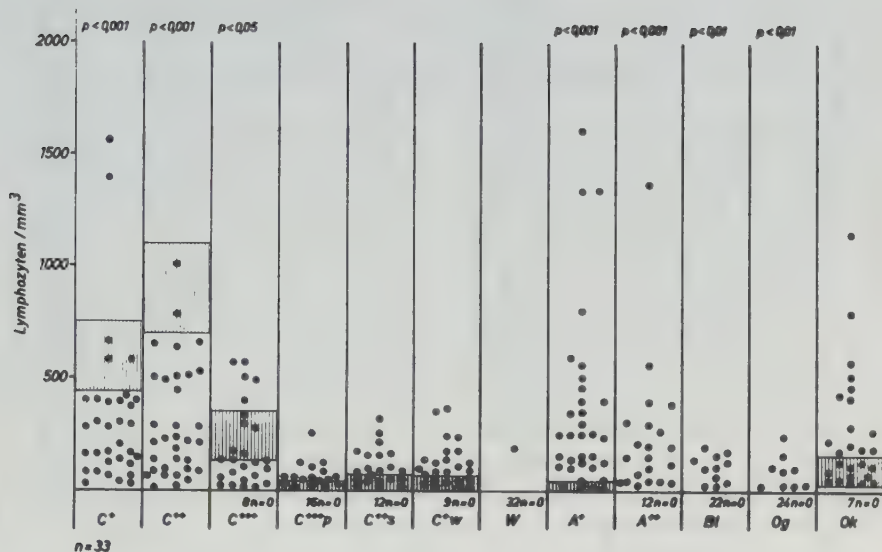


Abb. 6: Lymphozytenpopula-
tionen bei der
schockinduzierten
intravaskulären
zellulären
Transformation

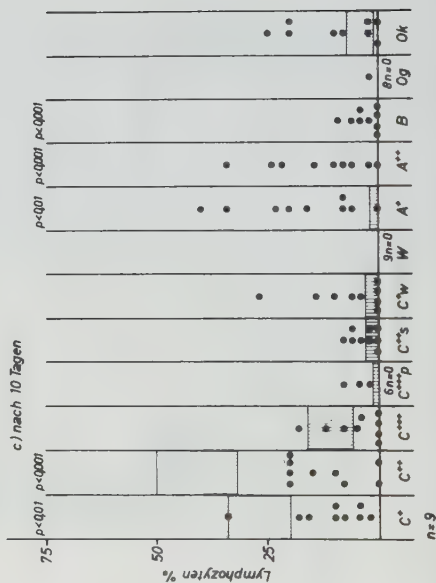
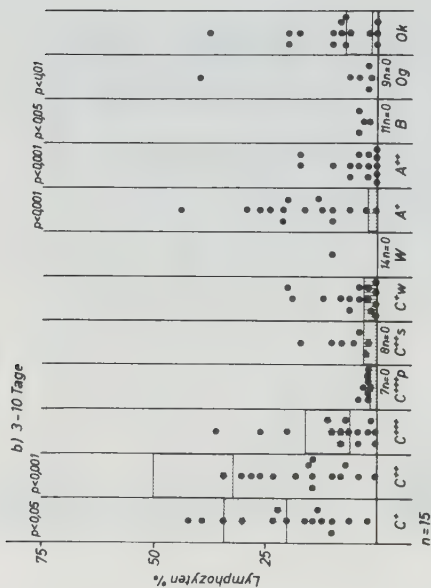
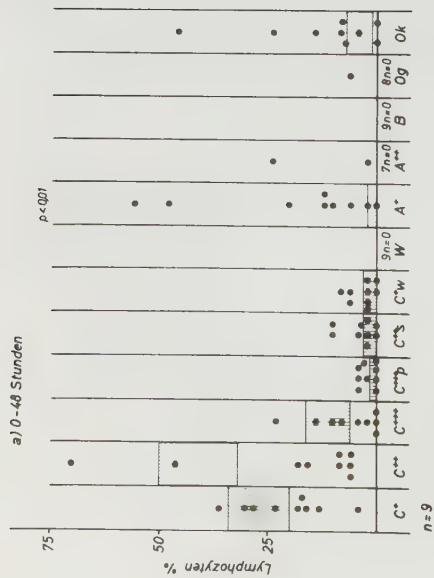


Abb. 7 a, b, c: Zeitliche Veränderungen der schockinduzierten Umverteilung im Subpopulationsspektrum peripherer T-Lymphozyten.

a) nach 0 - 48 Stunden

b) nach 3 - 10 Tagen

c) nach über 10 Tagen

3.3.O. Cortisoninduzierte Auswirkungen

3.3.1. Beeinflussung der funktionellen Kapazität

Untersucht wurden 31 Patienten; davon 17 mit akutem Herzinfarkt, 9 mit septischen Schockbildern und 5 mit Intoxikationen. Im Rahmen der Schockprophylaxe, bzw. -therapie wurden 27 Patienten hochdosiert mit Prednisolon-21-Hemisuccinat behandelt. 12 verstarben leider bereits in den ersten ein bis zwei Tagen nach Beginn der Cortisongabe aufgrund des Schockgeschehens oder infolge der schweren Grunderkrankungen, so daß bei diesen Fällen lediglich Untersuchungen über zwei Tage möglich waren; sie wurden in einer gesonderten Gruppe zusammengefaßt (ungünstiger klinischer Verlauf). Die übrigen 19 Patienten überlebten, so daß eine Verlaufskontrolle über mindestens 6, meist sogar über 10 Tage, möglich war. 4 Patienten wurden nicht mit Cortison behandelt und dienen, soweit beurteilbar, als Vergleichskollektiv. Die Blutuntersuchungen wurden soweit wie möglich vor Beginn der Cortisontherapie und zunächst in 6- und anschließend 24-stündigem Abstand bis zu möglichst 10 Tagen angestellt.

Lymphozytentransformationstest

Bei Betrachtung aller 15 Fälle, denen Cortison appliziert wurde mit klinisch günstigem Verlauf (Abb. 8 a) fällt auf, daß im Lymphozytentransformationstest die Kontrollwerte (spontane Stimulation) unter Cortison eine deutliche Hemmung erfahren; nach 3 - 4 Tagen liegen alle Werte außer einem unterhalb des Normbereichs.

Die PHA-Indizierte Stimulation erscheint nicht so auffällig vermindert; aber auch hier liegen 90 % der Werte nach 3 - 4 Tagen unterhalb des Normbereichs.

Von diesen 15 Patienten erhielten 10 initial 2 g Cortison und dann alle 8 Stunden 2 - 3 mal jeweils 2 g; die übrigen 5 bekamen initial nur 1 g und dann 8-stündlich 4 - 5 mal jeweils 250 oder 500 mg Cortison.

Schlüsselt man die Befunde nach diesem Dosierungsschema auf, so zeigt sich, daß in der Gruppe mit der höheren Cortisondosis (Abb. 8 b) die Kontrollwerte auffällig absinken (Vergleich zwischen 1. und 3. Tag: $p < 0.05$) und auch die mitogene Reaktivität gegenüber PHA gehemmt ist; nach 3 - 4 Tagen liegen alle Werte unterhalb des Normbereichs. Bei den Fällen mit der niedrigeren Cortisondosis (Abb. 8 c) dagegen liegt weder eine Hemmung der spontanen noch der PHA-induzierten Stimulation vor. Beide, vor allem die Kontrollen (Vergleich zwischen 0. und 4. Tag: $p < 0.05$) steigen eher an. Die Schockfälle, die kein Cortison erhielten (Abb. 8d), zeigen ein ähnliches Verhalten wie die Gruppe mit der niedrigeren Cortisondosierung. Sowohl die spontane als auch die PHA-Reaktivität weisen im Verlauf der 10 Tage nach dem Schockgeschehen keine wesentlichen Beeinflussungen auf. Bei den Fällen, bei denen aufgrund des ungünstigen klinischen Verlaufs lediglich Untersuchungen über zwei Tage möglich waren (Abb. 9), lassen sich bezüglich der cortisoninduzierten Kinetik auf die Transformationsfähigkeit keine eindeutigen Aussagen treffen. Sowohl die Kontroll- als auch die PHA-Einbauraten bleiben praktisch unbeeinflusst. Es fällt auf, daß vor und unter Cortison die spontane Stimulation eher erhöht ist (am 1. Tag: $p < 0.05$), während die PHA-induzierte Reaktivität bis auf eine Ausnahme unter die Norm erniedrigt ist (an beiden Tagen: $p < 0.001$).

Lymphotoxinnachweis

Beim Lymphotoxinnachweis zeigen sich unter Cortison als auch ohne Cortisongabe fast die gleichen kinetischen Befunde wie im Lymphozytentransformationstest.

Bei Betrachtung aller Fälle, die mit Cortison behandelt wurden und klinisch günstig verliefen (Abb. 10 a), läßt sich ein deutlicher Abfall der Lymphotoxinproduktion verzeichnen. Nach 1 - 2 Tagen liegen 2/3 der Werte unterhalb des Normbereichs.

Diese cortisoninduzierte Hemmung der Lymphotoxinproduktion

kommt noch ausgeprägter zum Ausdruck bei Darstellung der Fälle mit höherer Cortisonmedikation (Abb. 10 b). Alle Lymphotoxinindices liegen nach 1 - 6 Tagen unter dem Normbereich. Nach 8 - 10 Tagen hat sich die Lymphotoxinproduktion wieder weitgehend normalisiert. Signifikant unterscheiden sich die LT-Indices am 0. und 1. - 2. Tag ($p < 0.05$), sowie nach 1 - 2 Tagen und nach 8 - 10 Tagen ($p < 0.01$). In der Gruppe mit der niedrigeren Cortisondosierung (Abb. 10 c) liegt praktisch keine Beeinflussung des Lymphotoxin-nachweises vor.

Ebenso verhält es sich mit den Fällen, die kein Cortison bekamen (Abb. 10 d). Auch hier weist die Lymphotoxinproduktion in der 10-Tage-Kinetik keine wesentlichen Veränderungen auf, sondern bewegt sich während der gesamten Zeit im Normbereich.

Die cortisonbehandelten Schockfälle, die bereits in den ersten 1 - 2 Tagen verstarben, zeigen beim Lymphotoxinnachweis wie auch schon im Lymphozytentransformationstest ebenfalls keine eindeutige Reaktion gegenüber Cortison (Abb. 11). Es fällt auf, daß die Lymphotoxinproduktion sowohl vor als auch unter Cortison in fast allen Fällen erniedrigt ($p < 0.05$) ist.

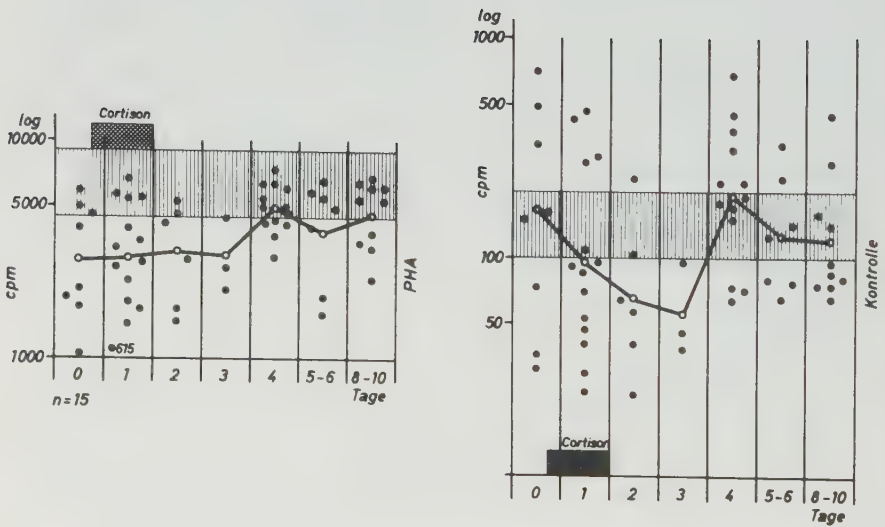


Abb. 8 a: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik der Spontanen (Kontrolle) und PHA-induzierten Stimulation peripherer Lymphozyten bei günstigem klinischen Verlauf. Alle Fälle mit Cortisonbehandlung.

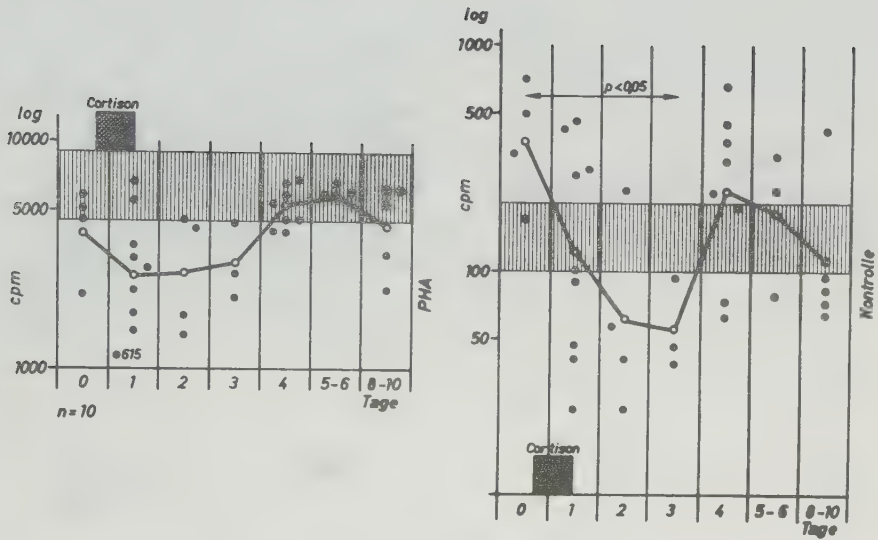


Abb. 8 b: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik der Spontanen (Kontrolle) und PHA-induzierten Stimulation peripherer Lymphozyten bei günstigem klinischen Verlauf. Bei höherer Cortisondosierung.

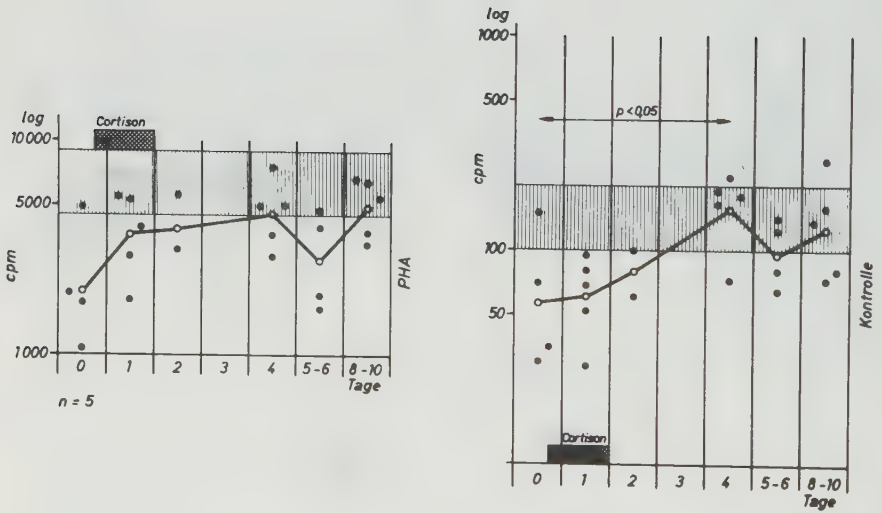


Abb. 8 c: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik der Spontanen (Kontrolle) und PHA-induzierten Stimulation peripherer Lymphozyten bei günstigem klinischen Verlauf. Bei niedrigerer Cortisondosierung.

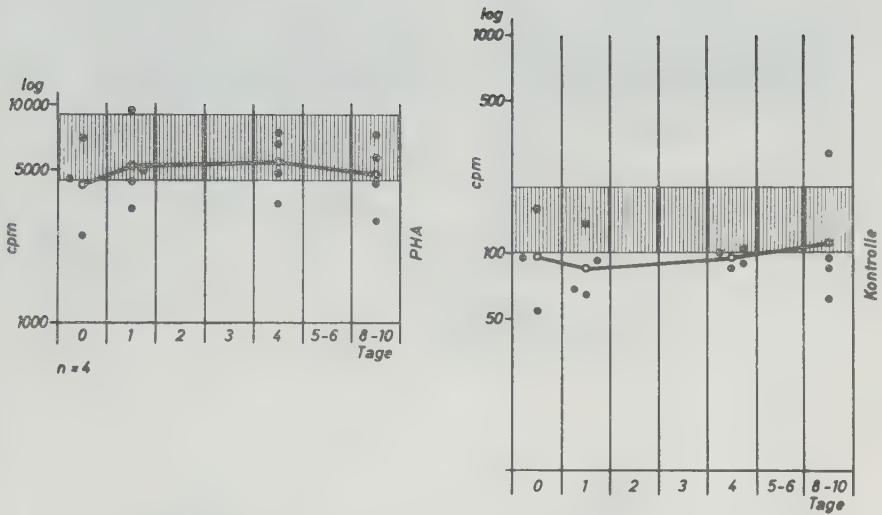


Abb. 8 d: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik der Spontanen (Kontrolle) und PHA-induzierten Stimulation peripherer Lymphozyten bei günstigem klinischen Verlauf. Ohne Cortisonbehandlung.

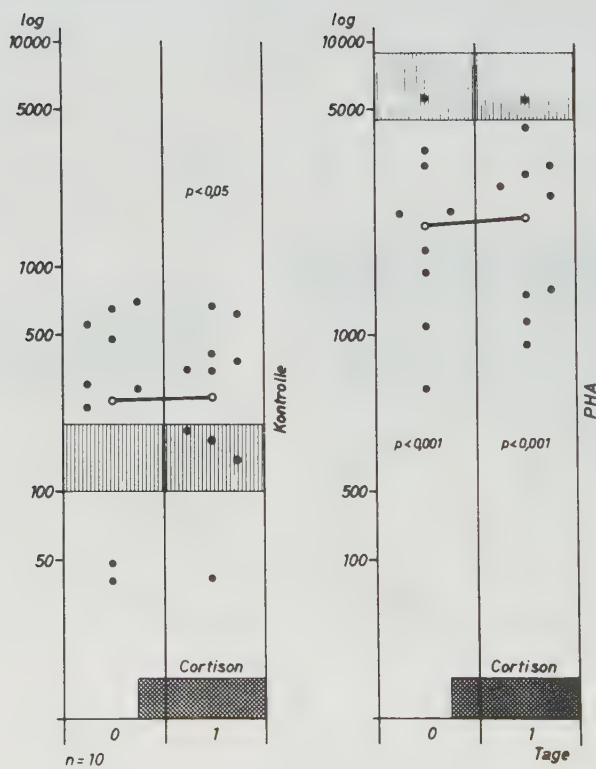


Abb. 9: Cortisoninduzierte 2 Tage-Kinetik der Spontanen (Kontrolle) und PHA-induzierten Stimulation bei ungünstigem klinischen Verlauf.

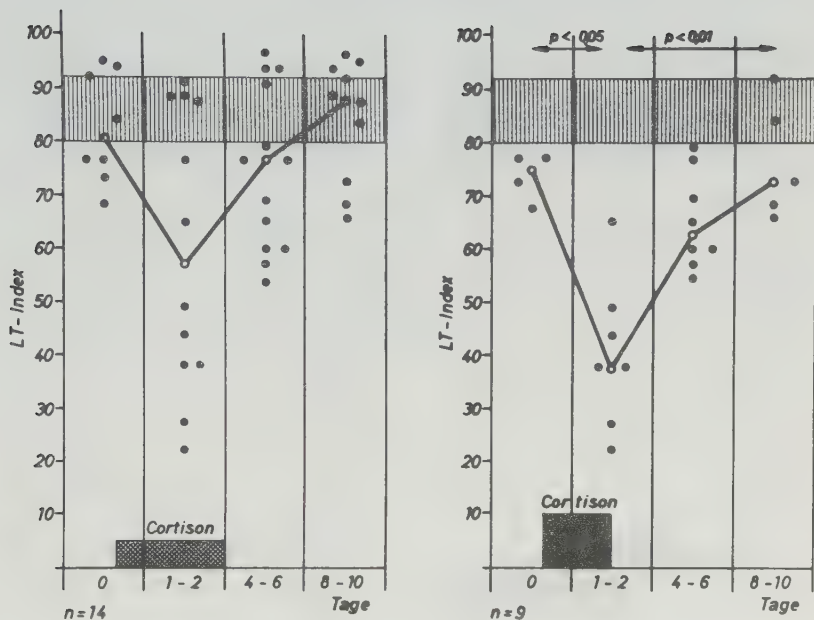


Abb. 10 a, b: Cortisonindzierte 10 Tage-Kinetik der Lymphotoxinproduktion bei günstigem klinischen Verlauf.
Links: Alle Fälle mit Cortisonbehandlung.
Rechts: Bei höherer Cortisondosierung.

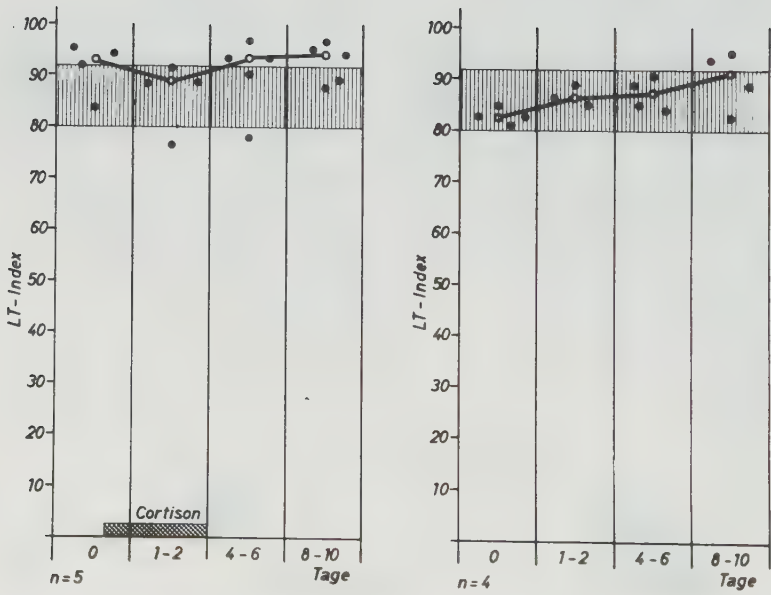


Abb. 10 c, d: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik der Lymphotoxinproduktion bei günstigem klinischen Verlauf.
Links: Bei niedrigerer Cortisondosierung.
Rechts: Ohne Cortisonbehandlung.

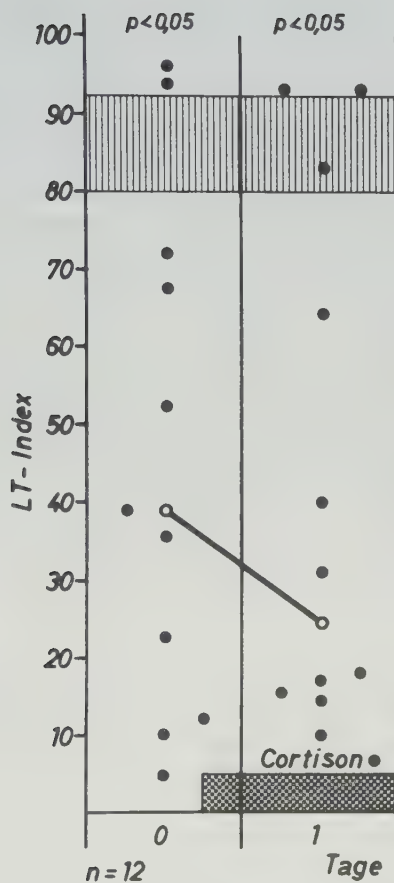


Abb. 11: Cortisoninduzierte 2 Tage-Kinetik der Lymphotoxinproduktion bei ungünstigem klinischen Verlauf.

3.3.2. Beeinflussung des Subpopulationsspektrums

Die morphologischen Auswirkungen der hochdosierten Cortisontherapie im Schock wurden bei 18 Patienten untersucht. Sie wurden im Rahmen der Schockprophylaxe, bzw. -therapie mit Prednisolon-21-Hemisuccinat (40 mg/kg Körpergewicht intravenös alle 8 Stunden über maximal 36 Stunden) behandelt. Die Blutuntersuchungen wurden möglichst vor Beginn der Cortisontherapie und zunächst in 6- und anschließend in 24-stündigem Abstand über 10 Tage lang, soweit möglich, durchgeführt.

FHG Markierung (Abb. 12, 13, 14, 15)

Nach, bzw. noch unter der hochdosierten Cortisontherapie bei Schockzuständen finden sich aufgrund des Subpopulationsspektrums peripherer Lymphozyten zwei Reaktionsmuster. Sie unterscheiden sich in erster Linie durch das Verhalten der sogenannten cortisonresistenten Populationen C^{+++} und C^{+++}_p und zum anderen durch das Auftreten, bzw. Nichtauftreten von aktivierten Lymphozytenformen (A^+ , A^{++} , B).

Erster Reaktionstyp (Abb. 12, 13, 15)

In Abb. 12 sind die verschiedenen zeitlichen Stadien vor, bzw. nach Cortisongabe dargestellt. Vor Cortisonapplikation (Abb. 12 a) lassen sich keine statistisch signifikanten Abweichungen nachweisen. Aber bereits innerhalb der ersten 24 Stunden kommt es zu einem starken Abfall der schwach (C^+ : $p < 0.001$) und mittelstark (C^{++} : $p < 0.05$) markierten kleinen Lymphozyten (Abb. 12 b). Diese Bewegung wird durch eine nach der 6. Stunde beginnende vermehrte Ausschwemmung von kleinen, stark clusterförmig markierten Zellen (C^{+++} : $p < 0.01$ und C^{+++}_p : $p < 0.001$) überlagert (Abb. 12 b). Diese Tendenz der Abnahme der C^+ - und C^{++} -Formen sowie gleichzeitigen Zunahme der C^{+++} - und C^{+++}_p -Zellen hält nach 48 Stunden (Abb. 12 c) weiter an (C^+ : $p < 0.05$; C^{++} und C^{+++} : $p < 0.01$; C^{+++}_p : $p < 0.001$). Der Zeitpunkt der maximalen Zellverschiebung dieser sogenannten cortisonresistenten Zellen C^{+++} und C^{+++}_p liegt zwischen 24

und 72 Stunden (Abb. 15), wo sie zum Teil bis zu 80 % aller Blutlymphozyten ausmachen. Nach 3 - 4 Tagen (Abb. 12 d) setzt eine phasenhafte Repopulation des peripheren Blutes durch andere Lymphozytenformen ein. Lediglich die C^{++} -Zellen sind noch vermindert ($p < 0.001$); demgegenüber scheinen die C^{+++} -Formen teilweise vermehrt aufzutreten (6 von 10 Werten über 30 %), ohne daß dies jedoch signifikant ist (Abb. 12 d). Zunächst normalisieren sich die schwach markierten kleinen Lymphozyten C^+ (Abb. 12d). Der Anteil der cortisonresistenten Zellen C^{+++} und C^{+++}_p fällt dann nach 6 - 7 Tagen (Abb. 12 e) rasch auch auf Werte der Norm entsprechend. Zeitlich deutlich versetzt findet sich eine langsame Repopulation der mittelstark markierten kleinen Lymphozyten C^{++} , deren Anteil sowohl noch 6 - 7 (Abb. 12 e) als auch 10 Tage (Abb. 12 f) nach Cortisongabe erniedrigt ist ($p < 0.05$). Dagegen treten die O_g - und O_k -Zellformen nach 10 Tagen (Abb. 12 f) etwas vermehrt auf (O_g : $p < 0.01$ und O_k : $p < 0.05$). Aktivierete Lymphozyten (A^+ , A^{++} , B) treten in keiner Phase innerhalb dieser 10 Tage (Abb. 12 a - f) auffällig oder etwa signifikant gehäuft auf.

Bei alleiniger Darstellung von nur cortisonresistenten und aktivierten Zellen in einer "10-Tage-Kinetik" beim ersten Reaktionstyp (Abb. 13), fällt nach einem Tag ein sprunghafter Anstieg der cortisonresistenten Lymphozyten auf (Vergleich zwischen 0. und 1. Tag: $p < 0.05$), der ebenfalls am 2. Tag anhält (Vergleich zwischen 0. und 2. Tag: $p < 0.05$). Nach 3 - 4 Tagen unterscheidet sich demgegenüber die Verteilung der C^{+++} und C^{+++}_p -Zellen nicht mehr signifikant von derjenigen vor Cortisongabe am 0. Tag, obwohl noch einige Werte deutlich erhöht sind (6 von 10 Werten über 30 %). Nach 6 - 7, bzw. 8 - 10 Tagen liegen die cortisonresistenten Lymphozyten wieder im Bereich der Norm; ihre Verteilung nach 8 - 10 Tagen unterscheidet sich signifikant von der am 2. Tag (Vergleich zwischen 2. und nach 8 - 10 Tagen: $p < 0.001$).

Die aktivierten Zellen treten zunächst vor Cortisongabe leicht

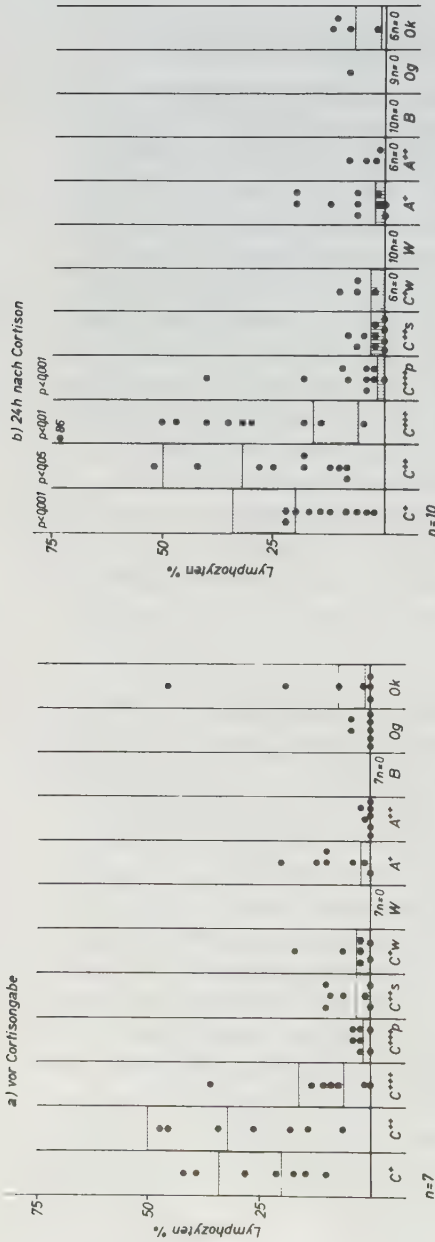
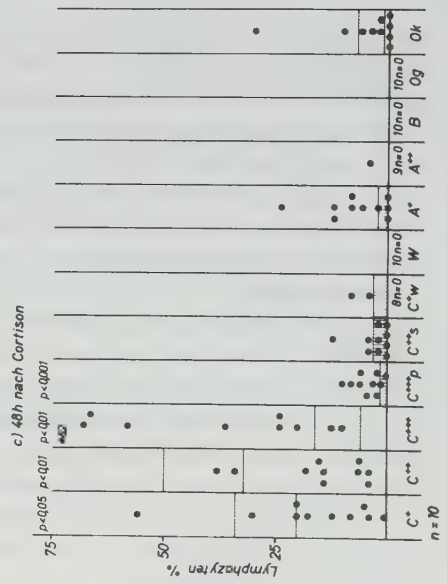


Abb. 12 a, b, c: Zeitliche Veränderungen der cortisoninduzierten Umverteilung im Subpopulationsspektrum peripherer T-Lymphozyten.

- a) vor Cortisongabe
- b) 24 Stunden nach Cortison
- c) 48 Stunden nach Cortison



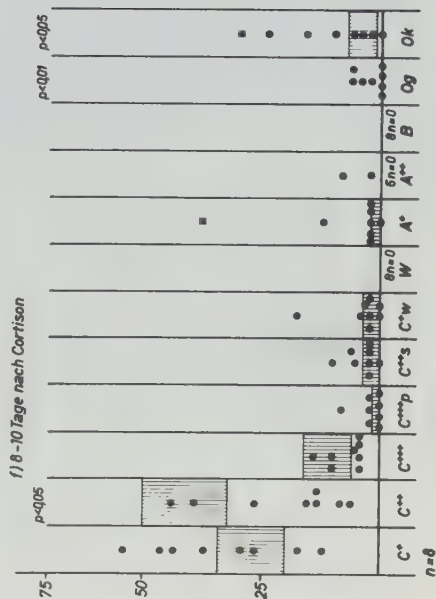
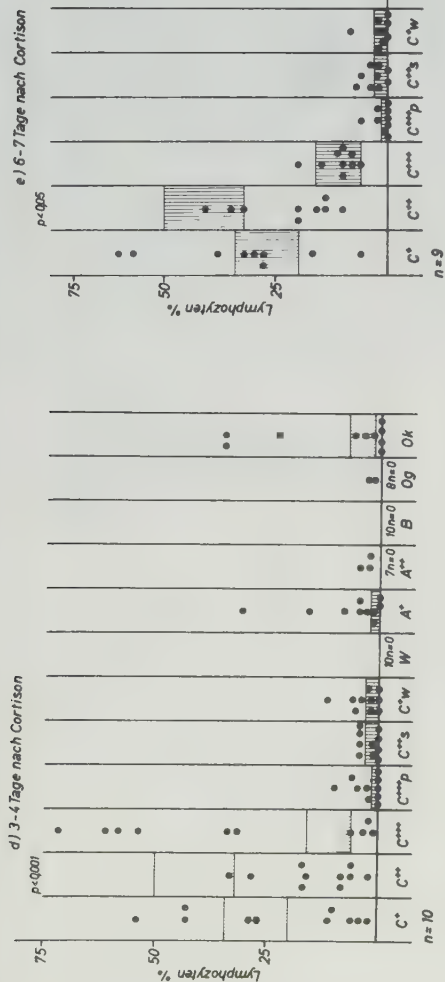


Abb. 12 d, e, f: Zeitliche Veränderungen der cortisoninduzierten Umverteilung im Subpopulationspektrum peripherer T-Lymphozyten.

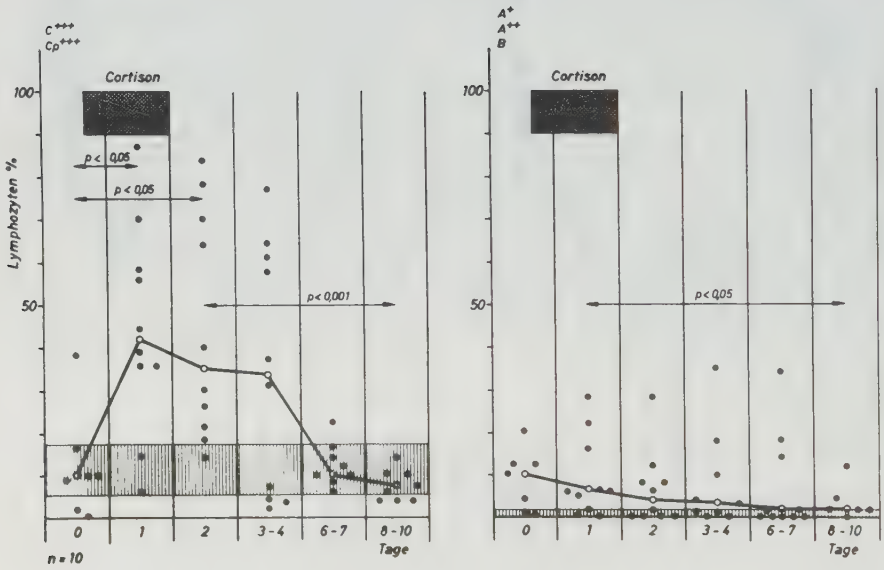


Abb. 13: Cortisoninduzierte 10 Tage-Kinetik von cortison-resistenten und aktivierten Lymphozyten.
"Erster" Reaktionstyp.

vermehrt auf; nach Cortison erfahren sie eine merkliche Reduzierung. Ihre Verteilungen am 2. Tag und nach 8 - 10 Tagen unterscheiden sich signifikant (Vergleich zwischen 2. und nach 8 - 10 Tagen: $p < 0.05$).

Zweiter Reaktionstyp (Abb. 14)

Beim zweiten Reaktionstyp kommt es in den meisten Fällen, abgesehen von zweien, nach Cortison ebenfalls initial zu einem Abfall der C^+ - und C^{++} -Zellformen und entsprechend zu einem Anstieg der cortisonresistenten Lymphozyten C^{+++} und $C^{+++}p$. Im Unterschied zum ersten Reaktionsmuster erfolgt diese Ausschwemmung cortisonresistenter Zellen einmal wesentlich früher, bereits schon nach 2 - 4 Stunden, bzw. in zwei Fällen nach 12 Stunden, und zum anderen hält sie auch nur ganz kurzfristig an. Bei den sehr frühen Anstiegen nach 2 - 4 Stunden ist bereits nach 4 Stunden wieder ein Absinken zum Normbereich zu verzeichnen. In den zwei Fällen mit Maximalwerten nach 12 Stunden ist der Effekt einen Tag später wieder abgeklungen. Außerdem erreichen die cortisonresistenten Zellen selten solche maximalen Werte wie beim ersten Typ, sondern liegen größtenteils unter 50 %.

Als wesentliches Charakteristikum beim zweiten Reaktionstyp ist die zunehmende Ausschwemmung von aktivierten Lymphozyten (A^+ , A^{++} , B) anzusehen. Die Werte liegen, bis auf einen, innerhalb der beobachteten 36 Stunden alle weit über dem Normbereich, teilweise über 50 % hinausreichend. Ihr vermehrtes Auftreten im Blut erfährt im Gegensatz zum ersten Typ durch Cortison keine Hemmung.

Statistisch signifikante Unterschiede beim zweiten Reaktionstyp zwischen den Verteilungen zu den verschiedenen Zeitpunkten finden sich weder bei den cortisonresistenten noch bei den aktivierten Zellformen.

Klinischer Verlauf

Im klinischen Verlauf weisen diese beiden Reaktionstypen, soweit dies bei der geringen Fallzahl beurteilt werden kann,

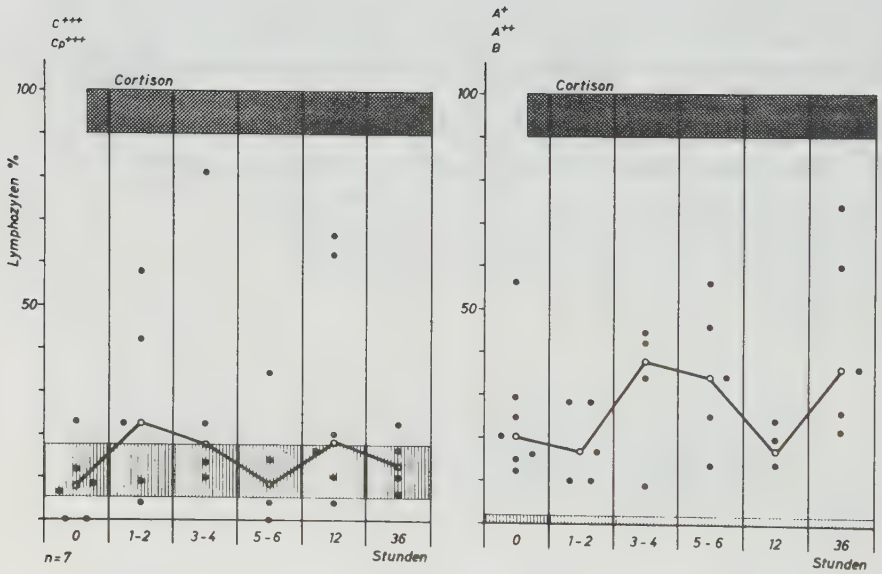


Abb. 14: Cortisoninduzierte 36 Stunden-Kinetik von cortison-resistenten und aktivierten Lymphozyten.
"Zweiter" Reaktionstyp.

ebenfalls Unterschiede auf.

Im ersten Fall, mit der ausgeprägten Reaktivität gegenüber Cortison zeigt sich ein klinisch günstiger Verlauf; alle Patienten überlebten.

Der Krankheitsverlauf des zweiten Typs mit nicht blockierbarer, zunehmender Ausschwemmung aktivierter Lymphozyten und fehlendem Anstieg cortisonresistenter Zellen ist ungünstig; außer einem verstarben alle Patienten innerhalb der ersten 4 Tage.

3.3.0. Funktionelle Kapazität und Subpopulationsspektrum

3.3.1. Funktionelle Kapazität cortisonresistenter Zellen

Nach hochdosierter Cortisongabe kommt es beim ersten Reaktionstyp innerhalb von 24 bis 72 Stunden zu einer maximalen Zellverschiebung im Subpopulationmuster peripherer Lymphozyten (Abb. 15). Zu diesem Zeitpunkt machen die cortisonresistenten Zellen zum Teil bis zu 80 % aller Lymphozyten aus (C^{+++} und C^{+++} : $p < 0.001$), während die Hauptpopulationen infolgedessen stark reduziert sind (C^{+} und C^{++} : $p < 0.001$), sodaß eine charakteristische, weitgehend monomorphe Population das Spektrum bestimmt. Als zytologische Befunde findet man eine Lymphopenie ($p < 0.001$) sowie Verminderung der M-Ig-positiven Zellen ($p < 0.001$) und der E-Rosetten-bildenden Lymphozyten ($p < 0.01$) (Abb. 15).

Funktionell zeigen die Lymphozytensuspensionen mit hohem Anteil an cortisonresistenten Zellen, soweit dies beurteilt werden kann, unter PHA eine verminderte Stimulation im Vergleich zum Normbereich ($p < 0.001$). Die PHA-induzierte Lymphotoxinproduktion ist in etwa auf die Hälfte herabgesetzt ($p < 0.01$) (beides Abb. 15).

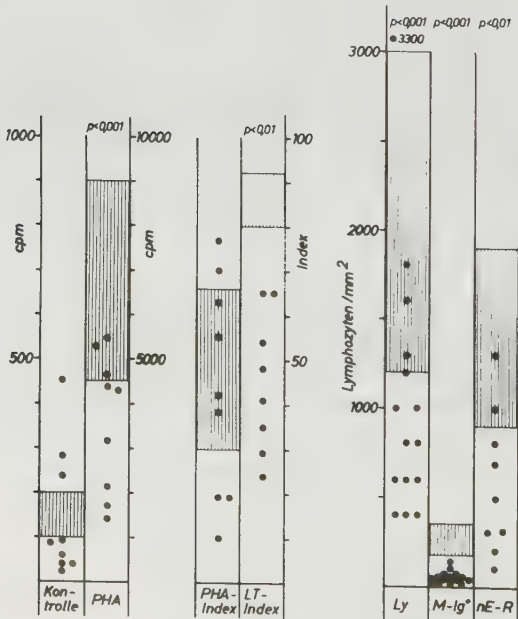
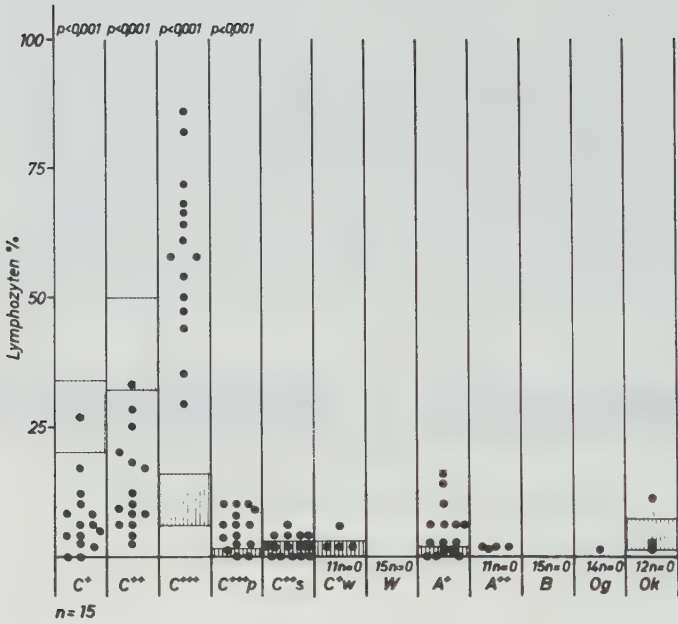


Abb. 15: Funktionelle Kapazität cortisonresistenter Zellen.

3.3.2. Einteilung nach funktionellen Aspekten

Um den möglichen Einfluß einer Verschiebung im Subpopulationsspektrum peripherer Lymphozyten auf die funktionelle Kapazität der Zellsuspensionen zu untersuchen, wurden die Schockfälle zusätzlich nach funktionellen Gesichtspunkten in verschiedenen Gruppen eingeordnet und ihnen die entsprechenden morphologischen Konstellationen gegenübergestellt (Abb. 16 a, b, c). Folgende Kriterien bestimmten die Aufteilung:

Einmal wurden die Fälle mit hoher spontaner Stimulation (Kontrollwerte größer als 300 cpm) zusammengefaßt (Abb. 16 a). Außerdem wurde eine Gruppe von den Fällen mit niedriger PHA-induzierter Stimulation (PHA-Werte kleiner als 2 500 cpm) und niedrigem Lymphotoxinindex (kleiner als 40) gebildet (Abb. 16 b) und dieser eine Gruppe von denen mit relativ hoher PHA-induzierter Stimulation (PHA-Werte größer als 3000 cpm) und hohem Lymphotoxinindex (größer als 50) gegenübergestellt (Abb. 16 c). Obwohl das System zum Teil unübersichtlich ist und verfälschende pharmakologische Einflüsse nicht auszuschließen sind, scheinen sich in gewisser Weise typische Konstellationen abgrenzen zu lassen, die Hinweise auf die funktionelle Kapazität einiger Subpopulationen von Blutlymphozyten erlauben.

Bei erhöhter spontaner Stimulation (Kontrolle) (Abb. 16 a) fällt eine deutliche Verminderung der Hauptpopulationen C^+ ($p < 0.05$) und C^{++} ($p < 0.001$) auf, während die aktivierten Zellformen A^+ , A^{++} und B vermehrt (bei allen: $p < 0.001$) auftreten. Die M-Ig-positiven Lymphozyten sind vermindert ($p < 0.05$). Sowohl die PHA-induzierte Transformation als auch die Lymphotoxinproduktion erfahren eine Hemmung (bei beiden: $p < 0.001$).

Bei niedriger PHA-induzierter Stimulation und niedrigen Lymphotoxinindices (Abb. 16 b) findet sich ebenfalls eine auffällige Abnahme ($p < 0.001$) von C^+ - und C^{++} -Zellen. Demge-

genüber ist neben einer Zunahme ($p \leq 0.001$) der aktivierten Lymphozyten A^+ , A^{++} und B auch die Anzahl der C_w^- ($p \leq 0.05$) und O_k^- ($p \leq 0.001$) Populationen erhöht. Die M-Ig-positiven Zellen sind wieder erniedrigt ($p \leq 0.01$).

Bei hohen Lymphotoxinindices und verhältnismäßig hohen Werten in der PHA-induzierten Stimulation (Abb. 16 c) findet sich eine praktisch normale Verteilung innerhalb der C^+ -Population (n. s.), während die C^{++} -Zellen auch hier vermindert sind ($p \leq 0.001$). Von den aktivierten Lymphozyten treten lediglich die A^+ ($p \leq 0.001$) und A^{++} ($p \leq 0.01$) Zellen gehäuft auf; außerdem sind die O_k -Formen etwas vermehrt ($p \leq 0.05$). Die M-Ig-positiven Lymphozyten sind erneut deutlich reduziert ($p \leq 0.001$).

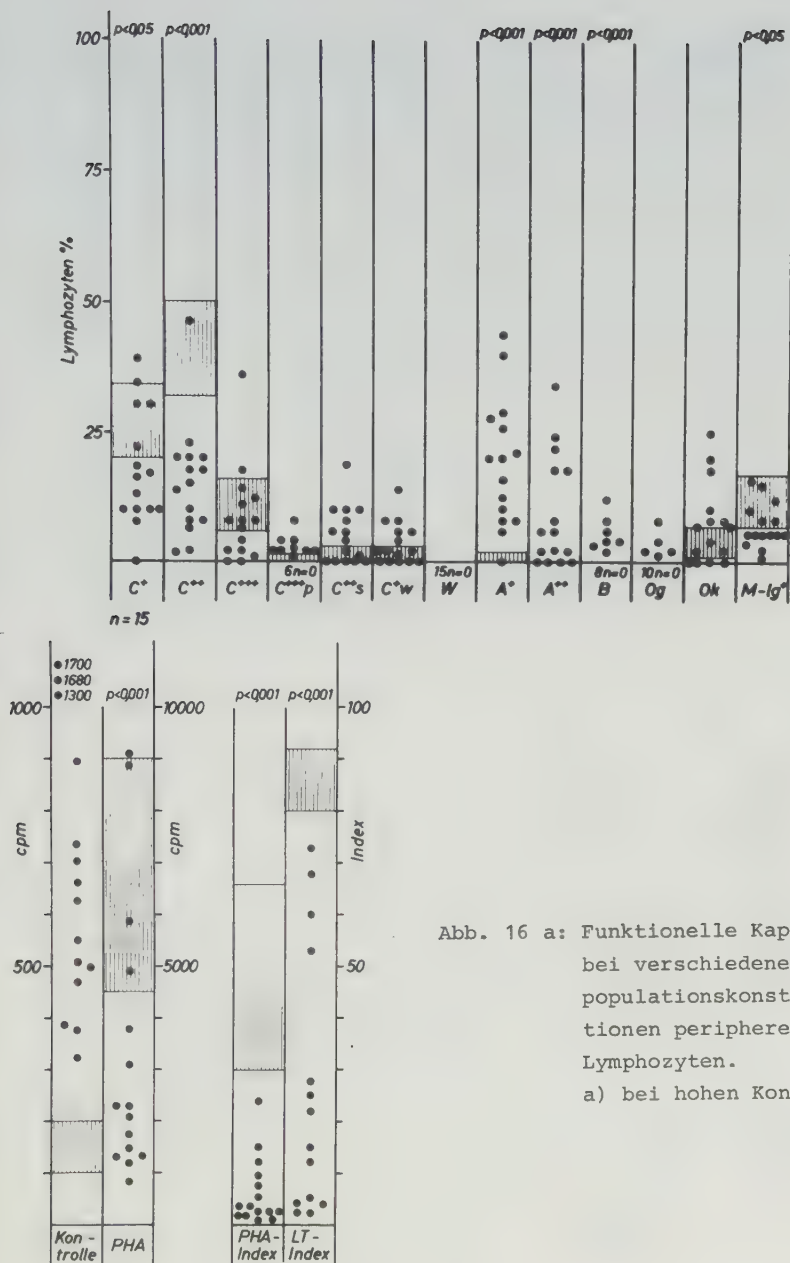


Abb. 16 a: Funktionelle Kapazität bei verschiedenen Subpopulationskonstellationen peripherer Lymphozyten.
a) bei hohen Kontrollen.

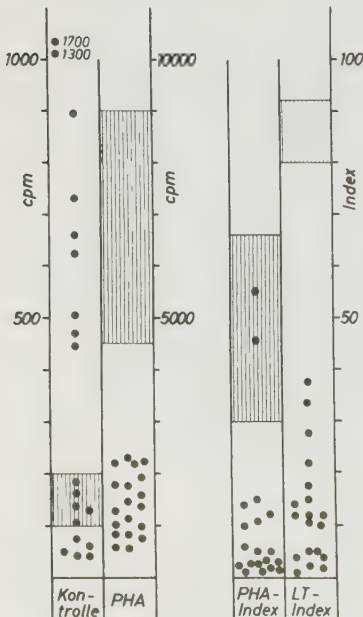
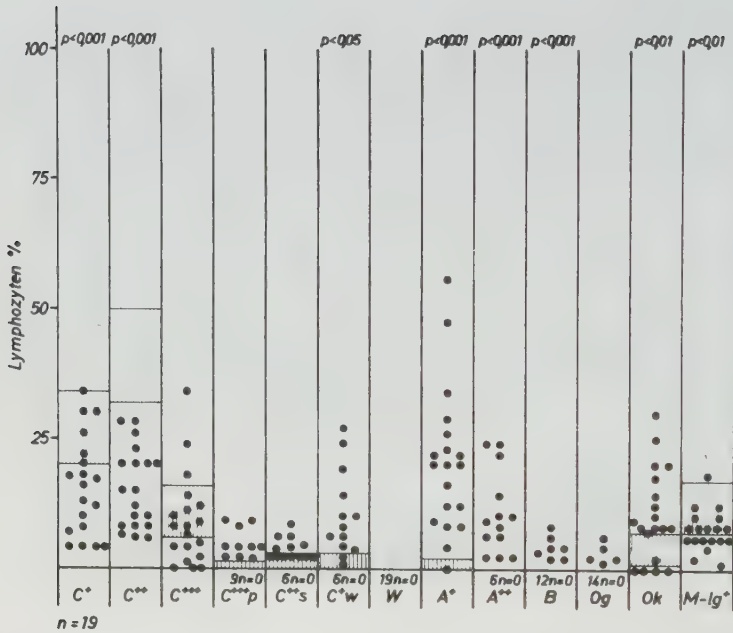


Abb. 16 b: Funktionelle Kapazität bei verschiedenen Subpopulationskonstellationen peripherer Lymphozyten.
b) bei niedriger PHA-induzierter Stimulation und Lymphotoxinproduktion.

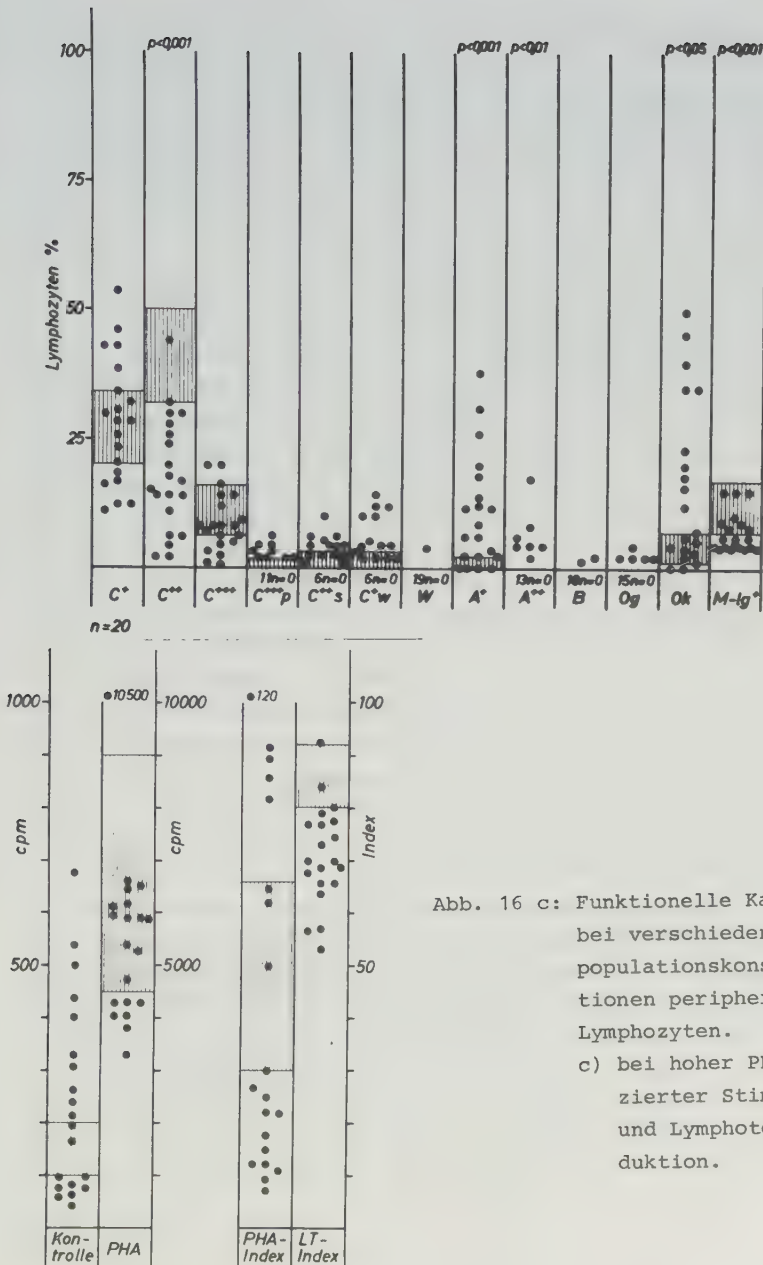


Abb. 16 c: Funktionelle Kapazität bei verschiedenen Subpopulationskonstellationen peripherer Lymphozyten.

c) bei hoher PHA-induzierter Stimulation und Lymphotoxinproduktion.

4.O.O. DISKUSSION

Menschliche Lymphozyten weisen experimentell im Vergleich zu Concanavalin A- und MLC-induziertem Lymphotoxin eine maximale Lymphotoxinproduktion unter PHA-Stimulation auf (WILLIAMS und GRANGER, 1969, BOULOS et al., 1974, DAYNES und GRANGER, 1974). Aufgrund dessen wurde beim Nachweis von Lymphotoxin PHA als Stimulans verwendet.

Die Lymphotoxingewinnung erfolgte durch Zentrifugation der Kulturüberstände, während andere Autoren vergleichsweise aufwendige analytische Techniken wie Ultrafiltration, Gel-filtration, Säulenchromatographie und Polyacryl-Gel-Elektrophorese beschreiben (HEISE und WEISER, 1969, RUSSELL et al., 1972, GRANGER et al., 1973, SMITH et al., 1977). Bei zunehmendem Reinheitsgrad soll die spezifische Aktivität von Lymphotoxin entsprechend ansteigen (SMITH et al., 1977). Andere Untersucher unterscheiden aufgrund analytischer Kriterien ein sogenanntes alpha-, beta-1- und beta-2-Lymphotoxin (HISERODT und GRANGER, 1976, HISERODT et al., 1976 a, b).

In der vorliegenden Untersuchung dienten als Targetzellen bei den ersten drei Methoden HELA-Zellen; bei der vierten wurden DBA/2-Zellen verwendet. Bei Betrachtung verschiedener Zelltypen als Targetzellen weisen HELA-Zellen nach L-929-Maus-Fibroblasten die größte Sensibilität gegenüber der Zerstörung durch Lymphotoxin auf (GRANGER und WILLIAMS, 1971).

Bezüglich des Mechanismus der lymphotoxininduzierten Zell-lysis besteht noch Unklarheit. Diskutiert wird unter anderem eine Hemmung der Proliferationsrate, ohne daß eine echte Zellzerstörung erfolgt (PERLMAN und HOLM, 1969, RUDDLE, 1972). Neuere Untersuchungen weisen mehr darauf hin, daß der primäre Effekt von Lymphotoxin auf einer lytischen Alteration der Plasmamembran beruht und kaum die DNS-Synthese beeinflußt (KRAMER und GRANGER, 1973, FRIEND und ROSENAU, 1977). Als Kompensation gegenüber der Zellverletzung tritt

eine Zunahme der RNS-Synthese auf (ROSENAU et al., 1973, KUNITOMI et al., 1975).

Die Proliferationsrate der Targetzellen wurde anhand des 14-C-Thymidin-Einbaus bestimmt. Die 14-C-Inkorporation soll ein direktes und exaktes Maß für die noch in den Kulturen erhaltenen vitalen Zellen darstellen (GRANGER und KOLB, 1968, KRAMER und GRANGER, 1973).

Bei der ersten Methode zum Lymphotoxinnachweis ohne Zusatz frischen Mediums blieben von den mit Kontrollüberständen beschickten Targetzellen noch etwa 60 % erhalten. HELA-Zellen sollen derart sensibel auf unspezifische toxische Faktoren reagieren, daß bereits von den Kontrollüberständen bis zu 50 % zerstört werden (BADGER et al., 1971). Zum anderen könnte es sein, daß Lymphozyten spontan, das heißt ohne Mitogenstimulation in vitro oder bereits in vivo Lymphotoxin bilden. Allerdings konnte Lymphotoxin in vivo bisher noch nicht eindeutig im gesunden menschlichen Organismus nachgewiesen werden (ROSENAU und TSOUKAS, 1976). Ebenso wenig findet sich beim Normalen in vitro spontanes Lymphotoxin in den Kulturüberständen von Lymphozyten allein ohne Antigenstimulation (PETER et al., 1976).

Nach Zugabe von Kontrollüberstand plus frischem Medium bei der zweiten Methode sind noch 90 % der Zellen erhalten. Demnach dürften bei der ersten Methode zunächst 30 % der Zellen aus Mangel an frischem Medium zugrunde gegangen sein, z. B. infolge Intoxikation durch Stoffwechselprodukte. Entsprechend findet sich bei Zugabe von verbrauchtem HELA-Zellen-Kulturmedium verschiedenen Alters zu frisch angesetzten HELA-Zellen ein direkter Zusammenhang zwischen dem Alter des Mediums und den noch vitalen Zellen nach einigen Tagen. Umso älter das hinzugefügte Medium ist, desto weniger HELA-Zellen bleiben erhalten. Analog wirkt sich die Menge von frischem Kulturmedium auf die Vitalität der Targetzellen aus.

Bei den mit PHA-Überständen beschickten HELA-Zellen spielt der Einfluß des Nährmediums keine Rolle; bei den beiden

ersten Methoden stimmen die Zerstörungsraten mit jeweils 90 % überein. Der zytotoxische Effekt des PHA-induzierten Lymphotoxins dürfte zu einer massiven Überlagerung führen, wahrscheinlich infolge einer überreichlichen Lymphotoxinproduktion in den PHA-Überständen. Untersuchungen, bei denen Lymphotoxin in verschiedenen Verdünnungen (1 : 0, 1 : 2, 1 : 5, 1 : 10) zu Targetzellen gegeben wurde und die Zerstörungsraten jeweils unverändert bleiben (KRAMER und GRANGER, 1973), bestätigen dies. Ebenso zeigen ähnliche Versuche mit 1/3- und 1/4-Verdünnungen von Lymphozytenkulturüberständen übereinstimmende Zerstörungsraten (TSUTSUI und EVERETT, 1974).

Die gleichen Autoren berichten, daß Target-Fibroblasten gewöhnlich besser in der Gegenwart von Kontrollüberständen wachsen als bei Zugabe von frischem Medium. Dieses Phänomen konnte auch gelegentlich beobachtet werden, war jedoch nicht die Regel.

Als Hauptparameter für den Lymphotoxinnachweis wurde in Anlehnung an andere Untersucher (KRAMER und GRANGER, 1973, PETER et al., 1976, SMITH et al., 1977) der sogenannte Lymphotoxin-Index gewählt. Er stellt ein prozentuales Maß für die durch PHA-induziertes Lymphotoxin zerstörten Targetzellen dar. Die ermittelten Normalwerte für den LT-Index liegen zwischen 80 und 90. Analoge Versuche, ebenfalls mit PHA als Lymphotoxin-Inducer und Inkubationszeiten von 48 Stunden, jedoch mit L-Zellen als Targetzellen, ergaben Zerstörungsraten von 92.5 und 96.5 % (GRANGER und WILLIAMS, 1968, 1971, KRAMER und GRANGER, 1973). Diese etwas höheren Werte dürften durch die größere Lymphotoxinsensibilität von L-Zellen, verglichen mit HELA-Zellen, zu erklären sein (GRANGER und WILLIAMS, 1971).

Mit der zweiten untersuchten Methode zum Lymphotoxinnachweis wurde experimentell ein neues adäquates Verfahren entwickelt. Trotz Zugabe von frischem Medium bei dieser Methode findet sich beim Normalen noch eine Kontroll-Zerstörungsrate von 10 %. Möglicherweise ist dafür eine spontane Lymphotoxin-

produktion verantwortlich. Bei Wiederholung unter gleichen Bedingungen erweist sich diese Methode mit einem hohen Korrelationskoeffizienten von $+ 0.9595$ und $p \leq 0.001$ als das statistisch zuverlässigste Verfahren.

Entsprechend liefert allerdings die erste Methode nahezu ebenso zuverlässige Parameter ($r = + 0.9527$, $p \leq 0.001$). Beim Vergleich von erster und zweiter Methode korrelieren beide sehr direkt miteinander ($r = + 0.9125$, $p \leq 0.001$), was die Gleichsetzung und Zusammenfassung aller LT-Indices aus beiden Verfahren rechtfertigen dürfte.

Gleichzeitig bedeutet diese hohe Korrelation, daß beide Tests relativ spezifische Indikationsansätze zum Nachweis von Lymphotoxin darstellen. Das gleiche gilt für den Vergleich zwischen erster und dritter Methode ($r = + 0.8697$, $p \leq 0.001$), die sich beide, abgesehen von wenigen Modifikationen, in ihren Grundzügen kaum unterscheiden.

Die zweite und vierte Methode korrelieren nicht miteinander ($r = + 0.4750$, n. s.). Bei beiden Tests wurden verschiedene Arten von Targetzellen benutzt; außerdem differieren sie in ihren zeitlichen Abläufen deutlich. Demgegenüber fanden SMITH et al., (1977) beim Vergleich zweier sehr ähnlicher Lymphotoxinverfahren eine hochsignifikante Korrelation.

Im Schock ist die mitogene Reaktivität menschlicher Blutlymphozyten in vitro gegenüber PHA signifikant herabgesetzt, während die spontane Stimulation eher erhöht erscheint. Entsprechend erfährt die PHA-induzierte Lymphotoxinproduktion eine signifikante Hemmung. Diese Phänomene dürften als Ausdruck einer schockinduzierten initialen Aktivierung der Lymphozyten in vivo zu werten sein, so daß wahrscheinlich eine partielle refraktäre Phase der PHA-induzierten Funktionen in vitro besteht. Diese Einschränkung der funktionellen Möglichkeiten während des Schockgeschehens läßt vermuten, daß zu diesem Zeitpunkt für den Organismus ein Zustand weitgehender zellulärer Immunsuppression existiert (DESAGA, 1978), der sich in fehlender lymphozytärer in vitro- und in

vivo-Reaktivität äußert. Ähnliche immunsuppressorische Phänomene wurden auch bei anderen Krankheitsbildern beobachtet, wie nach schweren operativen Eingriffen und Verletzungen (HOWARD und SIMMONS, 1974) sowie nach großen Verbrennungen (MUNSTER et al., 1972, 1973). Eine verminderte mitogene Reaktivität findet sich postoperativ (RIDDLE und BERENBAUM, 1967, BERENBAUM et al., 1973) und nach ausgedehnten Verbrennungen (MAHLER und BATCHELOR, 1971, EUSENIUS und MORTENSEN, 1971, LEGUIT et al., 1973), wobei biosynthetische Veränderungen in den Nukleinsäuren von Lymphozyten beschrieben werden (DANIELS et al., 1970). Analoge Hemmungen in der Mitogen-Antwort bestehen bei Patienten mit chronisch aggressiver Hepatitis (TOBIAS et al., 1967, RÖSSLER et al., 1969, GUDAT et al., 1971, CACON et al., 1972, GIUSTINO et al., 1972, SMITH et al., 1972, SCHUMACHER und MAERKER-ALSER, 1974, PAPPAS et al., 1975), mit chronisch lymphatischer Leukämie (QUAGLINO und COWLING, 1964, HAYHOE et al., 1966, HAVEMANN und RUBIN, 1968, RUBIN et al., 1969, CATOVSKY et al., 1972, KÖNIG et al., 1972, DESAGA, 1978) sowie mit systematisiertem Lupus erythematoses (MALAVE et al., 1975, ROSENTHAL und FRANKLIN, 1975, DESAGA, 1978). Außerdem ist die PHA-Transformationsfähigkeit von Lymphozyten herabgesetzt bei Personen unter psychischem Stress (BARTOP et al., 1977) sowie Patienten mit malignen Tumoren (FABRICIUS et al., 1979) und Multipler Sklerose (SIMON et al., 1980).

Entsprechend findet sich in vitro eine Verminderung der Lymphotoxinproduktion bei Patienten mit zellulären Immundefekten wie beim Morbus Hodgkin (SAVEL und MOEHRING, 1971) und Wiskott-Aldrich-Syndrom (OPPENHEIM et al., 1973).

Bei Betrachtung der funktionellen Ausgangsbefunde im Schock fällt auf, daß in der Gruppe mit späterem klinisch günstigen Verlauf die funktionelle Kapazität der Lymphozyten nur wenig beeinträchtigt ist. Dies läßt vermuten, daß der schockinduzierte Aktivierungsprozeß kaum angelaufen war, um die in vitro-Reagibilität merklich zu beeinflussen. In der Gruppe mit späterem klinisch ungünstigen Verlauf sind zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung die lymphozytären Funktionen erheblich eingeschränkt, so daß bereits eine fortgeschrittene

intravaskuläre zelluläre Transformation im Rahmen des Schocks anzunehmen ist.

Die fehlende Reaktivität korreliert zum Teil mit den Verschiebungen im Subpopulationsspektrum des zirkulierenden Lymphozytenpools bei der FHG Markierung.

Bei einer Vermehrung der aktivierten Zellformen A^+ , A^{++} und B auf Kosten der Hauptpopulationen C^+ und C^{++} liegt sowohl eine Blockierung der PHA-induzierten Transformation als auch Lymphotoxinproduktion vor, während die spontane Stimulation erhöht ist. Die O_k - und C_w -Zellen treten vermehrt auf, was einen zusätzlichen hemmenden Effekt dieser Fraktionen nahelegt. Die C_w -Zelle zeichnet sich durch eine fehlende Transformierbarkeit mit PHA aus (DESAGA, 1978).

Möglicherweise verbergen sich zum Teil hinter den im Schock vermehrt auftretenden Lymphozytenpopulationen auch sogenannte Suppressor-T-Zellen (FOLCH und WAKSMAN, 1973, GERSHON et al., 1974, MÖLLER, 1975, MUNSTER, 1976). Unabhängig davon ist eine humoral vermittelte Suppressorwirkung nicht auszuschließen, wie sie posttraumatisch (CONSTANTIAN et al., 1975) und nach Verbrennungen (SCHÖNEBERGER et al., 1975) beschrieben wird. Schließlich ist als Ursache für die zelluläre Immunsuppression noch die Existenz von lymphozytotoxischen Antikörpern (L. C. T. A.) zu diskutieren (MITTAL et al., 1973, EDITORIAL: L. C. T. A., 1976). Ihr Auftreten wird bei anderen immunologisch überlagerten Erkrankungen beschrieben wie Rheumatoïder Arthritis (STEFFEN et al., 1973), chronisch aggressiver und chronisch persistierender Hepatitis (BERTRAMS et al., 1974), organspezifischen Autoimmunerkrankungen (NOEL und FARID, 1975), Immundefekten (GELFAND et al., 1974), Lupus erythematodes (STENSZKY et al., 1975), nach Nierentransplantation (SIGNAL et al., 1975), bei hämodialisierten Patienten (SENGAR et al., 1975) und entzündlichen Herzerkrankungen (STRICKLAND et al., 1977).

Bereits in der akuten Schockphase wie auch in den weiteren Stadien sind die A^+ -Zellen erhöht. Der Einstrom dieser Lymphozyten, die Zeichen der initialen Aktivierung aufweisen, setzt etwa 12 Stunden nach Eintritt des Schockgeschehens ein (DESAGA, 1977). Nach ungefähr 3 Tagen tritt eine zunehmende Abnahme der Hauptfraktionen C^+ und C^{++} auf. Möglicherweise erfolgt ein Abstrom dieser Zellen bevorzugt zu den sogenannten Schockorganen wie Lunge und Nieren, die im Schock eine intravasale Lymphozytenansammlung mit zum Teil blastenartig vergrößerten Zellen erkennen lassen (BAKER, 1958, REMMELE, 1968, REMMELE et al., 1968, CLOWES et al., 1970, CLOWES, 1973 a, BROWN und WILLOUGHBY, 1973). Die Lunge nimmt dabei eine Sonderstellung ein, da sie als einziges Organ neben dem Herzen von der gesamten Blutmenge durchflossen wird, so daß sie als Filter für Zelltrümmer und Gewebsabbauprodukte wie eine Antigenfalle wirkt. Unabhängig von der Ursache des Schocks finden sich in der Endstrombahn der Lunge stets uniform ablaufende Veränderungen (LASCH, 1978, HEINE et al., 1980). Morphologisch ist diese Phase charakterisiert durch die intravaskuläre Stauung, das interstitielle Septenödem, die mononukleäre Leukozyteninfiltration sowie den diffusen fokalen Alveolarkollaps (CLOWES, 1973 b, WEISSER et al., 1973). In vielen Fällen kommt es im weiteren Verlauf zu einer direkten Schädigung der Lungenstruktur mit Endothelnekrose, Granulozytenhaftung (MITTERMAYER et al., 1977) und zur Ausbildung von Mikrothromben (LASCH et al., 1971, HORWITZ et al., 1972). Diese Entwicklung zur sogenannten Schocklunge ist durch eine massive Zellproliferation (MITTERMAYER et al., 1975) und klinisch durch die progrediente respiratorische Insuffizienz gekennzeichnet (LASCH et al., 1967, SCHULZ et al., 1974, GLASER, 1975, NEUHOF et al., 1976, STEINBEREITHNER, 1976 a, b, LASCH, 1978). Möglicherweise kann wie bei der kollageninduzierten zellulären Zytotoxizität von Lungenfibrosen (KRAVIS et al., 1976) die Beteiligung zytotoxischer Effektorzellen bei der Ent-

wicklung der Schocklunge diskutiert werden.

Entsprechend werden bei längerem Fortbestehen des schockauslösenden Ereignisses nach zirka 2 - 3 Tagen vermehrt große aktivierte Lymphozyten (A^{++}) ausgeschwemmt. Später wird diese Bewegung durch eine Zunahme der blastenähnlichen Zellen (B) überlagert. Diese ausgeprägte Veränderung im Subpopulationsmuster, beruhend auf einer Umwandlung von Lymphozyten im peripheren Blut, wird als intravaskuläre zelluläre Transformation (ICT) bezeichnet (DESAGA, 1977). Die gleichen aktivierten Zellformen finden sich in vivo bei Patienten mit infektiöser Mononukleose und chronisch aggressiver Hepatitis (DESAGA, 1978, SCHILLING, 1978). Morphologisch sind diese Zellen identisch mit Antigen-stimulierten T-Lymphozyten (CEROTTINI und BRUNNER, 1974, 1977, GREAVES et al., 1977), so daß für sie zytotoxische Effektorfunktionen angenommen werden (GREAVES und JANOSSY, 1972, CEROTTINI et al., 1973). Außerdem zeigen sie phänomenologisch große Ähnlichkeiten mit solchen Lymphozyten, die in vitro mit PHA stimuliert worden sind (HARDY und STEEL, 1971, SVEDMYR et al., 1974). Bei der FHG Markierung PHA-aktivierter Lymphozyten treten identische Zellen vom A^{-} , A^{++} - und B-Typ auf (DESAGA, 1978). Diese analogen Phänomene lassen die schockinduzierte ICT als ein in vivo-Äquivalent einer polyklonalen mitogeninduzierten Aktivierung von Lymphozyten erscheinen, wobei wahrscheinlich zytotoxische Effektorzellen entstehen. Die zelluläre zytotoxische Aktivität von Lymphozyten und die Produktion von Lymphotoxin sollen voneinander unabhängig sein (HENNEY et al., 1974). Andere Untersucher behaupten, daß Lymphotoxin die zellvermittelte lymphozytäre Zytolysis erst ermöglicht (GRANGER und WILLIAMS, 1971, WALKER und LUCAS, 1973, PETER et al., 1976, ROSENAU und TSOUKAS, 1976). Man vermutet, daß es ein sogenanntes "frühes Lymphotoxin" (in short-term cultures) und ein "spätes Lymphotoxin" (in long-term cultures) gibt, wobei das letztere dem klassischen mitogen- oder antigen-induzierten Lymphotoxin entsprechen soll (WALKER, 1975,

PETER et al., 1976). Bei den zellulären zytotoxischen Effekten soll hauptsächlich das frühe Lymphotoxin eine entscheidende Rolle spielen (LEE und LUCAS, 1975, PETER et al., 1976). Daher muß in Anbetracht des schockinduzierten intravaskulären Aktivierungsprozesses mit der Ausbildung von zytotoxischen Effektorzellen auch eine spontane Freisetzung von Lymphotoxin in vivo diskutiert werden. Hierfür fanden sich bei den Untersuchungen in vitro keine Hinweise. Die Zerstörungsraten der Targetzellen beschickt mit lymphozytären Kontrollkulturüberständen von Schockpatienten und Normalpersonen unterschieden sich nicht signifikant. Demgegenüber konnte in vitro die Freisetzung eines zytotoxischen Faktors durch Blutlymphozyten bei entzündlichen Herz-erkrankungen (SHORTER et al., 1972, 1973) und bei Dermatomyositis, beziehungsweise Polymyositis (JOHNSON et al., 1972) nachgewiesen werden, der viele identische Eigenschaften mit dem PHA-induzierten Lymphotoxin aufweist.

Die Lymphotoxinbildung soll an die Gegenwart von aktivierten Lymphoblastenzellen gebunden sein (GRANGER und WILLIAMS, 1968). Andere Untersuchungen besagen, daß zwischen der Blastentransformation und der Lymphotoxinproduktion keine direkte Beziehung besteht, insofern daß transformierte Zellen nicht unbedingt Lymphotoxin freisetzen (SHACKS und GRANGER, 1971). Ebenso steht nicht fest, ob man die Lymphotoxinbildung der T- oder B-Zellreihe zuordnen soll (PETER et al., 1976). Menschliche gereinigte T-Lymphozyten (94 % T-Zellen) produzieren Lymphotoxin (ROSENAU und TSOUKAS, 1976). Bei Mäuselymphozyten sollen auch T-Zellen dafür verantwortlich sein, denn Milzzellen von Mäusen mit angeborener Thymusaplasie bilden kein Lymphotoxin (SHACKS et al., 1973). Dagegen fanden BLOOM et al. (1975) beim Meerschweinchen eine Unabhängigkeit der Lymphotoxinproduktion von T-Lymphozyten. Entsprechend ist die zelluläre Spezifität der Mitogenstimulation von Lymphozyten ungeklärt. Menschliche T-Zellen sind durch PHA zu aktivieren (GEHA und MERLER, 1974). Analog

lassen sich reine B-Lymphozyten von Patienten mit Thymusaplasie nicht mit PHA stimulieren (AUGUST et al., 1968, GAYL-PECZALSKA et al., 1973). Demgegenüber beobachteten THOMAS und PHILLIPS (1973) eine Aktivierung von menschlichen B-Lymphozyten durch PHA. B-Zellen zeigen außerdem Reaktivität mit PWM (JANOSSY und GREAVES, 1971) und Endotoxin (PEAVY et al., 1970), wobei durch PWM eine Stimulierung nur in Gegenwart von T-Lymphozyten erfolgen soll (JANOSSY und GREAVES, 1975, CLOT et al., 1975, KEIGHLEY et al., 1976). Bei Mäusen aktivieren PHA und ConA die T-Zellen (ANDERSSON et al., 1972, GREAVES und BAUMINGER, 1972, JANOSSY und GREAVES, 1972, HEDFORS, 1974) und PWM T- und B-Lymphozyten (DOUGLAS und FUDENBERG, 1972, DOUGLAS, 1972). Im Gegensatz dazu fanden PHILLIS und ROITH (1973) sowie CHESS et al. (1974) eine Stimulation hochgereinigter B-Zellen durch PHA und ConA.

Diese Widersprüche relativieren die Aussagekraft für die Funktionsanalyse von PHA-induzierter Lymphozytentransformation und Lymphotoxinproduktion sowie deren Zuordnung von Subpopulationen. Die vorliegenden Befunde sprechen weitgehend für eine T-Zellabhängigkeit der funktionellen Kapazitäten, denn bei allen Funktionsanalysen liegt eine signifikante Verminderung der B-Lymphozyten vor. Dies wird bestätigt durch Untersuchungen an Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie (DESAGA et al., 1975, DESAGA, 1978). Innerhalb der T-Zellen sind in erster Linie die Hauptpopulationen C^+ und C^{++} für eine normale PHA-Reaktivität und Lymphotoxinbildung verantwortlich.

Die nachgewiesenen schockinduzierten Auswirkungen auf menschliche Blutlymphozyten weisen Parallelen mit antigeninduzierten Reaktionen im Tierexperiment auf. Hier wird ein Lymphozytenabfall ohne Schocksymptomatik nach Injektion von Antigenen beobachtet. T- und B-Zellen werden dosisabhängig an Orten mit hohem Antigengehalt immobilisiert und treten dort in Wechselwirkung mit dem injizierten Antigen auf. Dieser

Zellabstrom ist mit einer verminderten in vivo- und in vitro-Reaktivität gegenüber dem Antigen gekoppelt (SPRENT und MILLER, 1973). Nach 1 - 2 Tagen finden sich in der zentralen Lymphe Blasten, und 3 - 5 Tage später erscheinen dann spezifisch reaktive Lymphozyten im peripheren Blut (SPRENT und MILLER, 1972 a, b, SPRENT, 1976). Unspezifisch werden auch nicht sensibilisierte Lymphozyten an Orten mit hoher Antigenkonzentration sequestriert (ZATZ et al., 1971). Die Entwicklung der oben erwähnten, 2 - 3 Tage nach Beginn des Schockgeschehens und später auftretenden, aktivierten Zellformen (A^{++} , B) wird experimentell durch membranfixiertes Antigen in Abhängigkeit von Antigenmenge und Zeitdauer der Antigenpersistenz induziert. Sie lassen sich 3 - 4 Tage nach Antigenstimulation nachweisen und erreichen maximale Werte nach 10 - 11 Tagen. Sie zeigten auch Wirkung gegenüber Zellen, die nicht die gleichen Histokompatibilitätsantigene besitzen wie die stimulierende Zelle (SHUSTIK et al., 1976). Neben dieser zellvermittelten lymphozytären Zytotoxizität sind wahrscheinlich auch das mononukleare, phagozytäre System und humorale Mechanismen mit der Freisetzung zytotoxischer Substanzen (z. B. Lymphotoxin) beteiligt (GRANGER und WILLIAMS, 1968, 1971, GRANGER und KOLB, 1968, HEISE und WEISER, 1969, LOHMANN-MATTHES et al., 1972, 1973, EVANS et al., 1972, KRAMER und GRANGER, 1973, PETER et al., 1976, PIPER und McIVOR, 1975, KAPAS, 1977).

In der vorliegenden Arbeit findet sich beim Menschen im Schock bei den Fällen mit klinisch günstigem Verlauf bei in vivo-Applikation von initial 2 g Cortison und alle 8 Stunden 2 - 3 mal jeweils 2 g in vitro eine Hemmung sowohl der spontanen und PHA-induzierten Transformationsfähigkeit als auch der Lymphotoxinproduktion. Diese funktionellen Parameter bleiben bei der Gabe von initial 1 g und dann 8-stündlich 4 - 5 mal jeweils 250 - 500 mg Cortison unbeeinflusst, ebenso wie bei den Fällen ohne Cortison. Aufgrund dieser Ergebnisse muß man annehmen, daß die lymphozytären funktionellen Reak-

tionen zwar eine partielle Hemmung durch Cortison erfahren, daß diese Cortisonsensibilität jedoch dosisabhängig zu sein scheint.

In der Schocktherapie sind die Mechanismen der Wirkungseffekte von Glukokortikoiden im Detail noch weitgehend unbekannt, beziehungsweise umstritten. In der Literatur werden in erster Linie kardiovaskuläre Effekte, die Stabilisierung von Membranen, die Verbesserung des Gewebemetabolismus und direkte antitoxische Effekte gegenüber Endotoxinen diskutiert (CHAWLA et al., 1968, WEIL, 1970, MEDAU, 1973, REICH-GOTT und KENNETH, 1973, ALTURA und ALTURA, 1974, ERVE et al., 1975, GRABNER, 1975, KNORPP, 1975, SCHUMNER, 1975, ALTMEIER, 1976, SENECA, 1976, BURKHARDT und PEITSCH, 1976, NEUHOF et al., 1977). Unabhängig davon übt Cortison einen Einfluß auf das lymphatische Zellsystem aus (INGLE, 1938, COBURG et al., 1970, LEVINE und CLAMAN, 1970, COHEN, 1972, FAUCI und DALE, 1974, YU et al., 1974, FAUCI et al., 1976).

Daß die mitogeninduzierte Stimulationsfähigkeit der Lymphozyten auf Cortison in vitro und in vivo sensibel reagiert, wird sowohl beim Menschen (DRINGS und SONNEMANN, 1973, HEILMANN et al., 1973, BLOMGREN, 1974, BLOMGREN und ANDERSSON, 1976, Jeffery et al., 1976, FAUCI, 1976) als auch bei anderen Spezies beschrieben wie beim Kaninchen (DEHLING et al., 1976, JUY et al., 1976), beim Hund (ROSENBERG et al., 1975) sowie beim Rind (MUSCOPLAT et al., 1975). Dabei blockiert Dexamethason beim Menschen in vivo gegeben die in vitro-Reaktivität auf PHA am ausgeprägtesten, während die durch äquivalente Dosen Prednisolon oder Hydrocortison induzierte Hemmung weniger deutlich und durch supraoptimale PHA-Mengen reversibel ist (FAUCI, 1976). Ebenso erfolgt durch Cortison in vitro eine Hemmung der PHA-induzierten RNA-Synthese (ADLER et al., 1976 a).

Andere Untersuchungen besagen, daß die lymphozytäre mitogene Reaktivität in vitro durch Cortison, das in vivo verabfolgt wurde, unbeeinflusst bleibt (BALOW et al., 1975, TARGOWSKI,

1975, CLEMMENSEN et al., 1976). In vitro erfahren menschliche Lymphozyten durch Cortison eine deutliche Unterdrückung in ihrer mitogenen Antwort, wogegen sie, wenn man sie nach der Inkubation mit Cortison und vor der Zugabe von mitogenen Substanzen wäscht, eine unbeeinflusste Stimulation aufweisen (BERENBAUM et al., 1976). Dies würde bedeuten, daß die Reaktivität nur durch die direkte Gegenwart von Cortison eingeschränkt wird. Demgegenüber fanden andere, daß Prednisolon oral in vivo gegeben die antigeninduzierte Transformationsfähigkeit von menschlichen Lymphozyten in der gleichen Art und Weise beeinflußt wie es Hydrocortison in vitro zu tun pflegt (GROSS und HOLT, 1975).

Die von der applizierten Cortisondosis abhängigen Befunde erinnern an ähnliche Ergebnisse im Tierversuch. Bei Mäusen kommt es bei der Verabreichung von relativ niedrigen Cortisonmengen sogar zu einem Anstieg der mitogenen Proliferationsrate, während erst sehr hohe Cortisondosen (bis zu 750 mg Hydrocortison/kg KG) zu einer merklichen Blockierung der Reagibilität führen (DUMONT und ROBERT, 1976). Ebenfalls wird eine Dosisabhängigkeit von Cortison auf das Verhalten zirkulierender B-Lymphozyten bei Küken beschrieben (RUSU und COOPER, 1975). Demgegenüber findet man beim Menschen - vergleicht man zwei Gruppen von Normalpersonen, denen einmal 100 mg und zum anderen Mal 1 000 mg Methylprednisolon intravenös verabreicht wurden - keinen bemerkenswerten Unterschied in der MLC-Antwort. Bei beiden Cortisondosen liegt nach 12 Stunden eine signifikante Hemmung der MLC-Reaktivität vor, die bereits nach 24 Stunden wieder behoben ist (CHEIGH et al., 1975). Diese Beobachtung stimmt mit den vorliegenden Befunden überein; denn bei den Patienten, die ebenfalls initial mit 1 000 mg Methylprednisolon therapiert wurden, zeigt sich nach 24 Stunden eine unveränderte PHA-induzierte Stimulation. Die spontane Transformationsfähigkeit erfährt ebenfalls eine ausgeprägte Hemmung durch die höhere Cortisondosierung.

Analog dazu findet sich bei Mäusen nach Cortison eine markante Verminderung der spontanen Stimulation, die - im Gegensatz zur oben erwähnten Hemmung der mitogenen Antwort durch sehr hohe Dosen - bereits bei relativ niedriger Dosierung (ab 62 mg Hydrocortison/kg KG) einzusetzen beginnt (DUMONT und ROBERT, 1976). Bei unstimulierten menschlichen Lymphozyten bewirkt Dexamethason in vitro nach 6 Stunden zunächst eine Anregung der spontanen RNA-Synthese, um dann nach 24 Stunden eine Hemmung hervorzurufen (ADLER et al., 1976).

Eine entsprechende Abhängigkeit von der Cortisondosis wie im Transformationstest zeigt sich beim Nachweis von Lymphotoxin. Dabei fällt auf, daß die Lymphotoxinproduktion ausgeprägter blockiert wird, so daß man annehmen kann, daß die Lymphotoxinbildung eine größere Sensibilität gegenüber Cortison aufweist. Hierfür sprechen auch die Befunde über die funktionelle Kapazität von cortisonresistenten Lymphozyten, wo sich die PHA-Reaktivität im unteren Normbereich bewegt, während die Lymphotoxinfreisetzung bis auf die Hälfte der Norm herabgesetzt ist.

Es ist bekannt, daß Cortison die Lymphotoxinproduktion effektiv hemmt (WILLIAMS und GRANGER, 1969). Außerdem wird beschrieben, daß Hemmstoffe der Proteinsynthese und der oxidativen Phosphorylierung die Freisetzung von Lymphotoxin verhindern (GRANGER, 1970), ebenso wie Cytochalasin B (YOSHINAGA et al., 1972). Demgegenüber soll eine Hemmung der DNA-Synthese die Lymphotoxinbildung nicht beeinflussen (WILLIAMS und GRANGER, 1969), denn weder Vinblastin, Colchicin noch Thymidin üben irgendwelche Effekte bezüglich der Produktion von Lymphotoxin aus (SHACKS und GRANGER, 1971, HENNEY et al., 1974). HENNEY et al. (1974) berichten, daß die zyklische AMP keinen Einfluß auf die Lymphotoxinfreisetzung haben soll, während andere Untersucher bei einer Erhöhung der intrazellulären CAMP in Lymphozyten eine merkliche Reduzierung der Lymphotoxinbildung festgestellt haben (LIES

und PETER, 1973). Interessant ist diesbezüglich die Beobachtung, daß Cortison den intrazellulären "Level" der CAMP positiv beeinflusst (LEE, 1977), so daß man sich über die Kausalkette Cortison - CAMP - Lymphotoxin die Cortison-induzierte Hemmung der Lymphotoxinproduktion durchaus erklären könnte.

Ergänzend muß noch erwähnt werden, daß Cortison auch die Freisetzung von anderen lymphozytären Mediatoren wirkungsvoll hemmt, wie zum Beispiel die des "macrophage inhibitory factor" (MIF) (WAHL, 1975, WAHL et al., 1975).

Morphologisch zeigen sich unter der hochdosierten Cortisontherapie im Schock aufgrund des Subpopulationsspektrums von menschlichen Blutlymphozyten zwei verschiedene Reaktionsmuster.

Beim ersten Reaktionstyp kommt es innerhalb von 6 - 24 Stunden zu einem massiven Lymphozytenabstrom aus dem peripheren Blut, der vor allem auf Kosten der C^+ - und C^{++} -Zellen geht. Dagegen sind die stark clusterförmig markierten Lymphozyten (C^{+++} , $C^{+++}p$) von diesem Effekt nicht betroffen, sondern reagieren mit einer Einschwemmung. Der in der initialen Schockphase auftretende Abstrom dieser Zellen scheint durch Cortison eine Blockierung zu erfahren. Dies Verhalten erinnert an die Cortisonresistenz von Lymphozytenpopulationen im Tierexperiment. Bei Mäusen sind die meisten Thymuslymphozyten gegenüber dem zytotoxischen Effekt von Cortison empfindlich, 3 - 5 % der Zellen erscheinen jedoch resistent (LEVINE und CLAMAN, 1970, DUMONT und ROBERT, 1976). Sie liegen im Thymusmark, sind größer, strahlungsunempfindlich (BLOMGREN und ANDERSSON, 1971, TAKIGUCHI, 1971), T1-negativ und haben die geringe Thy-1-Dichte peripherer Lymphozyten (LECKBAND und BOYSE, 1971).

Funktionell sind die cortisonresistenten Lymphozyten für die "graft versus host" - Aktivität von Thymuszellen verantwortlich (COHEN et al., 1970) und zeigen Helferaktivität bei der Antikörperbildung (LEVINE und CLAMAN, 1970, BLOMGREN und

ANDERSSON, 1971). Sie können sowohl in vivo als auch in vitro gegen fremde Transplantationsantigene sensibilisiert werden und entwickeln danach ein zytotoxisches Potential (BLOMGREN et al., 1970, BLOMGREN und SVEDMYR, 1971). Sie gehören dem rezirkulierenden Lymphozytenpool an (BLOMGREN und ANDERSSON, 1971, 1972), dessen Verteilungskinetik durch Cortison (COHEN, 1972) geändert wird.

Außerdem lassen sie sich mit T-Zellmitogenen (PHA und ConA) stimulieren (BLOMGREN und SVEDMYR, 1971, JANOSSY und GREAVES, 1972, RUEHL et al., 1973, JACOBSSON und BLOMGREN, 1976). Dies wird durch die vorliegenden Untersuchungen über die funktionelle Kapazität von Cortison-resistenten Lymphozyten beim Menschen bestätigt. Hier zeigt sich beim Vorherrschen der cortisonresistenten Zellen eine PHA-Reaktivität, die im unteren Normbereich liegt, während die Fähigkeit zur Freisetzung von Lymphotoxin ungefähr auf die Hälfte der Norm reduziert ist.

Die cortisonresistenten Zellen zeigten morphologische Unterschiede. Es lassen sich die kleineren C^{+++} -Zellen von den etwas größeren aufgelockert erscheinenden C^{+++}_p -Zellen unterscheiden. Die C^{+++}_p -Form stellt möglicherweise ein frühes Aktivationsstadium der cortisonresistenten Lymphozyten dar. Auch zu den C^{++}_s -Zellen besteht nach morphologischen Kriterien eine differenzierungsabhängige Verwandtschaft, indem sich Übergansformen finden. Das Nebeneinander von grobgranulärer Markierung mit Elementen der clusterförmigen Markierung, könnte als Zeichen einer stärkeren Aktivierung von cortison-resistenten Zellen interpretiert werden (DESAGA, 1978).

Die übrigen cortisonsensiblen Lymphozyten erfahren unter Cortison eine Redistribution, beziehungsweise Sequestration in extravaskuläre Kompartimente, wahrscheinlich in das Knochenmark (COHEN, 1972, FAUCI und DALE, 1975, FAUCI, 1975b). Dabei scheint die C^{++} -Population besonders sensibel gegenüber Cortison zu reagieren, da deren Anteil noch nach 10 Tagen

deutlich vermindert ist, während die O_g - und O_k -Zellformen zu diesem Zeitpunkt leicht vermehrt auftreten, was als kompensatorische Reaktion auf den vorhergegangenen Cortisoneffekt interpretiert werden kann. Diese sensiblen Zellformen kooperieren möglicherweise in der Entwicklung der Aktivierung von cortisonresistenten Lymphozyten zu Effektorzellen (DESAGA, 1978).

Die Cortison-induzierte Hemmung der spontanen und PHA-induzierten Stimulation ist nach 48 - 72 Stunden am ausgeprägtesten, die der Lymphotoxinproduktion bereits nach 24 - 48 Stunden. Die cortisonresistenten Zellen erreichen ihre maximalen Werte nach 24 - 72 Stunden. Diese zeitliche Verknüpfung kann in der Art interpretiert werden, daß die eingeschränkte funktionelle Kapazität unter Cortison an die Anwesenheit eines hohen Prozentsatzes von cortisonresistenten Lymphozyten gebunden sein dürfte. Dagegen fanden andere Untersucher eine Hemmung der in vitro-Reaktivität bereits nach 1 - 12 Stunden, zu Zeitpunkten, in denen der Anteil von cortisonresistenten Zellen noch niedrig liegt (BOLDT et al., 1972, FAUCI und DALE, 1974, Yu et al., 1974, BOLDT et al., 1975, CHEIGH et al., 1975, JEFFERY et al., 1976).

Vier Tage nach Cortison haben die Lymphozyten wieder ihre funktionelle Kapazität erreicht. Andere Autoren beschreiben bereits eine Rückkehr auf normale Werte nach 4 Stunden (JEFFERY et al., 1976), beziehungsweise nach 24 Stunden (CHEIGH et al., 1975). Als Ausdruck der allmählichen Zunahme der Reagibilität ist auch die zunehmende Fähigkeit zur E-Rosettenbildung zu werten. In der ersten Phase nach Ausschwemmung von cortisonresistenten Zellen ins periphere Blut ist der Anteil an rosettenbildenden cortisonresistenten Lymphozyten bei FHG/E-Rosetten Doppelmarkierung geringer als im weiteren Verlauf (DESAGA et al., 1977 a). Auch von anderen Untersuchern wird eine Zunahme der E-Rosettenbildung beobachtet (FAUCI, 1975 a, b, FAUCI und DALE, 1975).

Außerdem dürfte die steigende Zahl von Zellen mit sauren

Phosphataseaktivitäten (DESAGA et al., 1977 a) ebenfalls auf der wiederkehrenden funktionellen Kapazität der Lymphozyten nach Cortison beruhen.

Cortison reduziert in vitro die zelluläre zytotoxische Aktivität von Lymphozyten (ROSENAU und MOON, 1962, SANDERSON und FRANKS, 1975). In der gemischten Lymphozytenkultur (MLC) hemmt Cortison die Entwicklung von zytotoxischen Zellen sowohl in der proliferativen als auch in der zytotoxischen Phase (STAVY et al., 1973, ALTMAN und COHEN, 1975). In vivo übt Cortison, in diesem Fall Dexamethason, verschiedenartige Wirkungen auf mononukleare Effektorzellen aus. Einmal hemmt es den zytotoxischen Effekt von Monozyten, während es dagegen die Zytotoxizität von "Nicht-T-Lymphozyten" erhöht. Bestimmte Subpopulationen von zytotoxischen Effektorzellen reagieren also verschieden sensibel auf Dexamethason (PARRILLO und FAUCI, 1976), ebenso wie auf Hydrocortison, das in vitro die Zytotoxizität von Thymus-Zellen hemmt, während es die von Milz-Zellen steigert (ALTMAN und COHEN, 1975), beziehungsweise nicht beeinflusst (JUY et al., 1976). Dexamethason in vivo unterdrückt auch die PHA-induzierte Zytotoxizität von Lymphozyten, während Hydrocortison und Prednisolon hierauf keinen Einfluß ausüben. Das heißt, daß bestimmte Cortikoide die zellulären Immunreaktionen in verschiedener Weise beeinflussen (FAUCI, 1976). Außerdem erhöht Cortison in vitro die Widerstandskraft von Targetzellen gegenüber dem zytotoxischen Effekt von Antikörpern und Komplement, so daß man eine schützende Funktion von Cortison gegenüber humoralen zytotoxischen Aktivitäten annehmen muß (SCHLAGER et al., 1976). Der immunsuppressive Effekt in vivo scheint dagegen auf komplexeren Mechanismen zu beruhen. Zum einen, daß durch die Umverteilung im peripheren Blut die cortisonresistenten Lymphozyten ein für die Sensibilisierung und Ausbildung von Effektorzellen ungünstigeres Mikrovonment vorfinden, während zum anderen gleichzeitig kooperierende Zellen fehlen dürften. Das kann bedeuten, daß für die Dauer der Cortison-

wirkung der Aktivierungsprozeß unterbrochen ist, wahrscheinlich auch deswegen, weil die Transformation üblicherweise extravasal an Orten mit hoher Antigenkonzentration erfolgt (DESAGA, 1978).

Ist der schockinduzierte Aktivierungsprozeß bereits angelaufen, kommt der beschriebene Cortisoneffekt nur noch partiell zur Wirkung oder fehlt völlig, wie es der zweite Reaktionstyp verdeutlicht. Hier erfolgt unter Cortison kein Abfall der peripheren Lymphozyten sondern eher ein Anstieg. Während die cortisonresistenten Zellen nur ganz kurzfristig in Erscheinung treten, ist demgegenüber eine zunehmende Ausschwemmung von aktivierten Lymphozytenformen (A^+ , A^{++} , B) zu beobachten. Diese Fälle zeigen trotz Cortison eine ausgeprägte intravaskuläre zelluläre Aktivierung und Transformation (ICT) (DESAGA, 1977). Außer einem verstarben alle Patienten innerhalb der ersten 4 Krankheitstage. Entsprechend zeigen die Fälle mit klinisch ungünstigem Verlauf funktionell keine merkliche Reaktion unter Cortison. Auffällig sind insgesamt die erhöhte spontane Stimulation, die Hemmung der PHA-Antwort und die reduzierte Lymphotoxinproduktion, zurückzuführen auf den bereits in vivo stattgefundenen schockinduzierten irreversiblen Aktivierungsprozeß.

Dagegen entwickelt bei etwa gleich schwerem initialen Krankheitsbild der sogenannte erste Reaktionstyp unter Cortison nicht das Bild einer ICT. Die Entwicklung, bzw. Ausschwemmung aktivierter Lymphozytenformen erscheint blockiert.

Alle Patienten überlebten das Schockereignis. Analog findet sich funktionell bei den Fällen mit klinisch günstigem Verlauf kinetisch eine dosisabhängige Hemmung der Transformationsfähigkeit und Lymphotoxinbildung durch Cortison.

Da diese beiden Reaktionstypen auch im klinischen Verlauf bemerkenswerte Unterschiede aufweisen, muß an eine zeitliche Wirkungsbegrenzung für die untersuchten Parameter von Cortison in der Schocktherapie gedacht werden. Nach den vorliegenden Untersuchungen liegt die Zeitspanne für einen effektiven Cortison-Einsatz zwischen der 6. und 12. Stunde nach Eintritt

des auslösenden Schockereignisses, was auch den klinischen Befunden entspricht. Diese eindeutige zeitliche Wirkungsbegrenzung steht in Übereinstimmung mit anderen Autoren, die einen wirkungsvollen Effekt der hochdosierten Cortisontherapie dann sahen, wenn Cortison in der Frühphase des Schocks appliziert wird (REICHGOTT und KENNETH, 1973, SENECA und GRANT, 1975, BURKHARDT und PEITSCH, 1976, SHATNEY et al., 1976), was sich auch besonders gut tierexperimentell nachweisen läßt (NEUHOF et al., 1977).

5.O.O. ZUSAMMENFASSUNG

Mit einem neu entwickelten Nachweisverfahren für menschliches Lymphotoxin läßt sich beim Normalen und im Schock nur eine sehr geringe spontane Lymphotoxinproduktion nachweisen. Schwere Schockzustände beim Menschen führen in vitro zu einer Hemmung der PHA-induzierten Transformationsfähigkeit und Lymphotoxinbildung von Blutlymphozyten. Als Zeichen einer initialen Aktivierung findet sich eine Erhöhung der spontanen Stimulation, nicht jedoch der spontanen Lymphotoxinproduktion. In vivo entspricht dies der Entwicklung eines intravaskulären lymphozytären Transformationsprozesses, der sich morphologisch anhand von Merkmalen der Oberflächenmembran mit der FHG Differenzierung erfassen läßt. Er ist charakterisiert durch eine massive Ausschwemmung aktivierter Zellen und der Entwicklung von Blastenformen, die möglicherweise ein zytotoxisches Potential besitzen.

Unter hochdosierter Cortisontherapie im Schock zeigen sich bei menschlichen peripheren Lymphozyten zwei Reaktionstypen, die sich auch klinisch unterscheiden. Die Fälle mit klinisch günstigem Verlauf erfahren durch Cortison in vivo eine dosisabhängige Einschränkung der in vitro-Reaktivität. Zytologisch liegt hier der Anstieg einer monomorphen Lymphozytenpopulation vor, den cortisonresistenten Zellen, die unter Therapie bis zu 80 % aller Blutlymphozyten ausmachen können. Demgegenüber treten diese Formen bei ungünstigem klinischen Verlauf trotz Cortison kaum auf, während dann aktivierte Zellen mit einer zunehmenden Ausschwemmung reagieren. Funktionell findet sich hier keine cortisoninduzierte Beeinflussung. Aufgrund dieser Synchronität von experimentellen und klinischen Befunden muß eine zeitliche Wirkungsbegrenzung von Cortison in der Schockbehandlung diskutiert werden, die in der Frühphase des Schockgeschehens liegt.

Für eine normale PHA-Antwort und Lymphotoxinproduktion sind innerhalb der T-Zellen bei der FHG Markierung hauptsächlich die C^+ - und C^{++} -Fraktionen verantwortlich. B-Lymphozyten scheinen funktionell keine wesentliche Rolle zu spielen.

6.O.O. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADLER, V. V., IOANNESIANIS, I. A., DMITRIEVA, L. A., KADAGIDZE, Z. G., SHAPOT, V. S. (1976 a) - Effect of dexamthasone on RNA synthesis in blood lymphocytes stimulated by phythemagglutinin. Biull. Eksp. Biol. Med. 81, 686
2. ADLER, V. V., IOANNESIANIS, I. A., KULEVICH, E. E., KADAGIDZE, Z. G., SHAPOT, V. S. (1976 b) - Influence of dexamethasone on RNA synthesis in human peripheral blood lymphocytes. Biull. Eksp. Biol. Med. 82, 811
3. AIUTI, F., WIGZELL, H. (1973) - Function and distribution pattern of human T-lymphocytes. I. Production of anti-T-lymphocyte specific sera as estimated by cytotoxicity and elimination of function of lymphocytes. Clin. exp. Immunol. 13, 171
4. AIUTI, F., CEROTTINI, J.-L., COOMBS, R. R. (1974) - Identification, enumeration and isolation of B- and T-lymphocytes from human peripheral blood. Scand. J. immunol. 3, 521
5. ALEXANDER, E., SANDERS, S., BRAYLAN, R. (1976) - Purported difference between human T- and B-cell surface morphology is an artefact. Nature 261, 239
6. ALTEMEIER, E. A. (1976) - Steroids in shock. Antibiot. Chemother. 21, 201
7. ALTMANN, A., COHEN, I. R. (1975) - Heterogeneity in the development of cytotoxic T-lymphocytes in vitro revealed by sensitivity to hydrocortisone. J. Exp. Med. 142, 790
8. ALTURA, B. M., ALTURA, B. T. (1974) - Peripheral vascular actions of glucocorticoids and their relationship to protection in circulatory shock. J. Pharmacol. Exp. Ther. 190, 300
9. ANDERSSON, J., SJÖBERG, O., MÖLLER, G. (1972) - Mitogens as probes for immunocyte activation and cellular cooperation. Transplant. Rev. 11, 131
10. ANDERSSON, C. L., GREY, H. M. (1974) - Receptors for aggregated IgG on mouse lymphocytes. J. Exp. Med. 139, 1175

11. AUGUST, C. S., ROSEN, F. S., FILLER, R. M., JANEWAY, C. A., MARKOWSKIS, B., KAY, H. E. M. (1968) - Implantation of a foetal thymus, restoring immunological competence in a patient with thymic aplasia (Di GEORGES Syndrome).
Lancet 2, 1210
12. BACH, F. H., BACH, M. L., SONDEL, P. M. (1976) - Differential function of major histocompatibility complex antigens in T-lymphocyte activation.
Nature 259, 273
13. BACON, P. A., BERRY, H., BROWN, R. (1972) - Cell mediated immune reactivity in liver disease.
Gut 13, 427
14. BADGER, A. M., COOPERBAND, S. R., GREEN, J. A. (1971) - Direct observations on the effect of "Proliferation Inhibitory Factor" on the clonal growth of target cells.
J. Immunol. 107, 1259
15. BAKER, S. B. de C. (1958) - Intravascular haemopoiesis in the renal medulla in shock.
J. Path. Bact. 75, 421
16. BALOW, J. E., HURLEY, D. L., FAUCI, A. S. (1975) - Immunosuppressive effects of glucocorticoids: Differential effects of acute administration on cell-mediated immunity.
J. Immunol. 114, 1072
17. BANKHURST, A. D., WARNER, N. L., SPRENT, J. (1971) - Surface immunoglobulins on thymus and thymus-derived lymphoid cells.
J. Exp. Med. 134, 1005
18. BARTOP, R. W., LUCKHURST, E., LAZARUS, L., KILOH, L. G., PENNY, K. (1977) - Depressed lymphocyte function after bereavement.
Lancet I, 834
19. BARZILAI, D., PLAVNICK, J., HAZANI, A., ENIATH, R., KLEINHAUS, N., KANTER, Y (1972) - Use of hydrocortisone in the treatment of acute myocardial infarction.
Chest 61, 488
20. BECKMANN, D. (1974) - Vorlesungsskript zur Medizinischen Psychologie.
Zentrum für Psychosomatische Medizin der J. L. U. Gießen

21. BERENBAUM, M. C., FLUCK, P. A., HURST, N. P. (1973) - Depression of lymphocyte responses after surgical trauma.
Br. J. Exp. Path. 54, 597
22. BERENBAUM, M. C., COPE, W. A., BUNDICK, R. V. (1976) - Synergistic effect of cortisol and prostaglandin E₂ on the PHA response. Relation to immunosuppression induced by trauma.
Clin. Exp. Immunol. 26, 534
23. BERTRAMS, J., REIS, H. E., KUWERT, E. SELMAIR, H. (1974) - Hepatitis associated antigen (HAA), HL-A antigens and autolymphocytotoxins (COCOCY) in chronic aggressive and chronic persistent hepatitis.
Z. Immunitätsforsch. 146, 300
24. BIANCO, D., PATRICK, R. and NUSSENZWEIG, V. (1970) - Apopulation of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes.
J. Exp. Med. 132, 702
25. BLOMGREN, H., TAKASUKI, M., FRIBERG, S. (1970) - Specific cytotoxicity by sensitized mous thymus cells on tissue culture target cells.
Cell. Immunol. 1, 619
26. BLOMGREN, H. ANDERSSON, B. (1971) - Characteristics of the immunocompetent cells in the mous thymus: Cell population changes during cortison-induced atrophy and subsequent regeneration.
Cell. Immunol. 1, 545
27. BLOMGREN, H., SVEDMYR, E. (1971) - In vitro stimulation of mous thymus cells by PHA and allogenic cells.
Cell. Immunol. 2, 285
28. BLOMGREN, H., ANDERSSON, B. (1972) - Recirculating lymphocytes in the mouse thymus are part of the relatively cortisoneresistant cell population.
Klin. Exp. Immunol. 10, 297
29. BLOMGREN, H. (1974) - Steroid sensitivity of the response of human lymphocytes to phytohemagglutinin and pokeweed mitogen: Role of phagocytic cells.
Scand. J. Immunol. 3, 655
30. BLOMGREN, H., ANDERSSON, B. (1976) - Steroid sensitivity of the PHA and PWM responses of fractionated human lymphocytes in vitro.
Exp. Cell. Res. 97, 233

31. BLOOM, B. R., STONER, G., GAFFNEY, J., SHEVACH, E., GREEN, I. (1975) - Produktion of migration inhibitory factor and lymphotoxin by non-T-cells.
Eur. J. Immunol. 5, 218
32. BOLDT, D. A., SKINNDER, M., KORNFELD, S. (1972) - Studies of two subpopulations of human lymphocytes differing in responsiveness to concavalin A.
J. Clin. Invest. 51, 3225
33. BOLDT, D. A., MACDERMOTT, R. P., JOROLAN, E. P. (1975) - Interaction of plant lectins with purified human lymphocyte populations: Binding characteristics and kinetics of proliferation.
J. Immunol. 114, 1532
34. BOULOS, G. N., ROSENAU, W., GOLDBERG, M. L. (1974) - Comparison and yield of antigen- oder mitogeninduced human lymphotoxins.
J. Immunol. 112, 1347
35. BOWEN, J. C., MILLER, W. C. (1975) - Pathophysiologic considerations in the diagnosis and treatment of post-traumatic pulmonary insufficiency.
Am. J. Surg. 130, 550
36. BØYUM, A. (1968) - Separation of leucocytes from blood and bone marrow.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. 21, 1
37. BROWN, A. A., WILLOUGHBY, D. A. (1973) - Morphologische Veränderungen der Rattenlunge bei drei Schocktypen.
In: Neue Aspekte der Trasyloltherapie Vol. 6
HABERLAND, G. L., LEWIS, D. H. (Herausg.)
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart
38. burkhardt, K., PEITSCH, W. (1976) - Die Cortison- und Liquemintherapie im septischen Schock bei Peritonitis.
Chirurg. 47, 322
39. CANTOR, H., BOYSE, E. A. (1975 a) - Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different ly antigens.
I. The generation of functionally distinct T-cell subclasses is a differentiative process independent of antigen.
J. Exp. Med. 141, 1376
40. CANTOR, H., BOYSE, E. A. (1975 b) - Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different ly antigens.
II. Cooperation between subclasses of ly⁺ cells in the generation of killer activity.
J. Exp. Med. 141, 1390

41. CATOVSKY, D., TRIPP, E. and HOFFBRAND, A. V. (1972) - Response to phytohaemagglutinin and pokeweed mitogen in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 1, 794
42. CEROTTINI, J. C., LAMBERT, P. H., DIXON, F. J. (1969) - Comparison of the immune responsiveness of NZB and NZB x NZW F₁ hybrid mice with that of other strains of mice. *J. Exp. Med.* 130, 1093
43. CEROTTINI, J. C., BRUNNER, K. T. (1974) - Cell-mediated cytotoxicity, allograft rejection and tumor immunity. *Advan. Immunol.* 18, 67
44. CHARTON, F. (1969) - Das weiße Blutbild nach aseptischen Operationen. Inaug.-Diss., Kiel
45. CHAWLA, R. C., SEATON, J. F., ROBINSON, B. H., HARRISON, T. S. - Steroid modifications of alpha adrenergic blockade and catecholamine secretions. *Surg. Gynec. Obstet.* 127, 824
46. CHEIGH, J. S., STENZEL, K. H., RIGGIO, R. R., KATZ, E. B., RUBIN, A. L. (1975) - Effects of methylprednisolone on mixed lymphocyte cultures in normal humans. *Transplant. Proc.* 7, 31
47. CHESSE, L., MACDERMOTT, R. P., SCHLOSSMAN, S. F. (1974) - Immunologic functions of isolated human lymphocyte subpopulations. I. Quantitative isolation of human T- and B-cells and response to mitogens. *J. Immunol.* 113, 1113
48. CLAMAN, H. N., CHAPERON, E. A., TRIPLETT, R. F. (1966) - Thymusmarrow cell combinations. Synergism in antibody production. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 122, 1167
49. CLEMMENSEN, O., ANDERSEN, V., HAUSEN, N. E., KARLE, H., KOCH, C., SOBORG, M., WEEKE, B. (1976) - Sequential studies of lymphocytes, neutrophils and serum proteins during prednisone treatment. *Acta. Med. Scand.* 199, 105
50. CLOT, J., MASSIP, H. and MATHIEU, O. (1975) - In vitro studies on human B- and T-cell purified populations. Stimulation by mitogens and allogenic cells, and quantitative binding of phytomitogens. *Immunol.* 29, 445

51. CLOWES, G. H. A., Jr., FARRINGTON, G. H., ZUSCHNEID, W.,
LOSSETTS, G. R., SARAVIS, C. A. (1970) - Circulating
factors in the etiology of pulmonary insufficiency
and right heart failure accompanying severe sepsis
(Peritonitis).
52. CLOWES, G. H. A., Jr. (1973 a) - The pulmonary response
to sepsis and endotoxin: Clinical and experimental
observations.
In: Gram negative bacterial infections. p. 419
URABASCHEK, B., URABASCHEK, R., NETER, E. (Herausg.)
Springer Verlag, Wien, New York
53. CLOWES, G. H. A., Jr. (1973 b) - Die Lungenreaktionen auf
zirkulierende Stoffe bei posttraumatischen und septi-
schen Zuständen.
In: Neue Aspekte der Trasyloltherapie, Vol. 6
HABERLAND, G. L., LEWIS, D. H. (Herausg.)
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart
54. COBURG, A. J., GRAY, S. H., KATZ, F. H. (1970) - Disap-
pearance rates and immunosuppression of intermittent
intravenously administered prednisolone in rabbits
and human beings.
Surg. Gynec. Obstet. 131, 933
55. COHEN, J. J., FISCHBACK, M., CLAMAN, H. M. (1970) - Hy-
drocortisone resistance of graft versus host activity
in mouse thymus, spleen and bone marrow.
J. Immunol. 105, 1146
56. CONE, R. A. (1972) - Rotational diffusion of rhodopsin
in the visual receptor membrane.
Nature New Biol. 236, 39
57. CONE, R. E., MARCHALONIS, J. J. (1974) - Surface proteins
of thymus-derived lymphocytes and bone-marrow-derived
lymphocytes. Selective isolation of immunoglobulin and
the O-antigen by non-ionic detergents.
Biochem. J. 140, 345
58. CONSTANTIAN, M. B., MENZVIAN, J. O., NIMBERG, R. B.,
SCHMID, K., MANNICK, J. A. (1975) - Suppression of
T-cell function by a peptide fraction in the serum of
traumatized patients.
Clin. Res. 23, 410
59. COOMBS, R. R. A., GURNER, B. W., WILSON, A. B., HOLM, G.,
LINDGREN, B. (1970) - Roseete-formation between human
lymphocytes and sheep red cells not involving immuno-
globulin receptors.
Int. Arch. Allergy. 39, 658

60. COOPER, H. L. (1972) - Studies on RMA metabolism during lymphocyte activation.
Transplant. Rev. 11, 3
61. DANIELS, J. C., COBB, E. K., LYNCH, J. B. (1970) - Altered nucleic synthesis in lymphocytes from patients with thermal burns.
Surg. Gynec. Obstet. 130, 783
62. DEHLING, A., CRISCI, C. D., SANZ, M. L., SUBIR'a, M. L. (1976) - Immunosuppressive effect of corticosteroids on rabbit's humoral and cellular response.
Allergol. Immunopathol. (Madrid) 4, 255
63. DESAGA, J. F. (1974) - Morphologische Identifizierung menschlicher B- und T-Lymphozyten.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 80, 1581
64. DESAGA, J. F., KRÜGER, J., TILKES, F. (1975) - Plasma membrane structure and mitogen reactivity in chronic lymphatic leukemia (CLL).
6th Workshop on Leucocyte Cultures, Basel
65. DESAGA, J. F. (1976) - Light microscopical demonstration of different cell membrane structures of human peripheral blood lymphocytes (PBL).
Klin. Wschr. 53, 43
66. DESAGA, J. F. (1977) - Intravaskuläre zelluläre Aktivierung und Transformation im Schock.
Intensivmedizin 14, 131
67. DESAGA, J. F., AMBERG, R., SCHIRMER, B., SCHLEY, W. (1977 a) - Phänotypische Charakterisierung und kinetische Aspekte von Cortison-resistenten T-Zellen beim Menschen.
Abstract, 8th Workshop on Leucocyte Cultures, Berlin
68. DESAGA, J. F., GLASER, E., AMBERG, R., SCHIRMER, B., SCHLEY, W., LÖFFLER, H. (1977 b) - Lymphozytenpopulationen beim Menschen. Marker, funktionelle und kinetische Aspekte bei Cortison-resistenten T-Zellen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 83, 1130
69. DESAGA, J. F., GLASER, E., AMBERG, R., SCHIRMER, B., SCHLEY, W., LASCH, H. G. (1977 c) - Die hochdosierte Cortison-Therapie bei der Schockbehandlung. Hemmung der intravaskulären zellulären Transformation bei Respondern.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 83, 1161

70. DESAGA, J. F. (1978) - Cytochemische Darstellung oberflächlicher Zellmembranproteine: Klassifizierung menschlicher Lymphozytenpopulationen durch definierte Markierungsmuster.
Habilitationsschrift am Bereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.
71. DICKLER, H. B. and KUNKEL, H. G. (1972) - Interaction of aggregated gamma-globulin and B-lymphocytes.
J. Exp. Med. 136, 191
72. DICKLER, H. B., SIEGAL, F. P., BENTWICH, Z. H., KUNKEL, H. G. (1973) - Lymphocyte binding of aggregated IgG and surface Ig staining in chronic lymphocytic leukaemia.
Clin. Exp. Immunol. 14, 97
73. DOHRMANN, R. E., DOHRMANN, M., JANISCH, H. D., KESSEL, M., v. TILLY, H. (1977) - Senkung der Infarktletalität doch möglich?
Ärztl. Praxis 29, 1003
74. DOUGLAS, S. D. (1972) - Electron microscopic and functional aspects of human lymphocyte response to mitogens.
Transplant. Rev. 11, 39
75. DOUGLAS, S. D. and FUDENBERG, H. H. (1969) - In vitro development of plasma cells from lymphocytes following pokeweed mitogen stimulation; a fine structural study.
Exp. Cell. Res. 54, 277
76. DRINGS, P., SONNEMANN, E. (1973) - Der Einfluß von Prednisolon auf die PHA-induzierte Euchromatisierung in menschlichen Lymphozyten.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 79, 609
77. DUDECK, J. (1974) - Biomathematische Übungen für Mediziner, Nr. 10.
Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Justus-Liebig-Universität Gießen.
78. DUMONT, F., ROBERT, F. (1976) - Dose-related effect of hydrocortisone treatment on the electrokinetic properties and mitogen responsiveness of mouse thymocytes.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 51, 482
79. EDITORIAL: (1976) - Lymphocytotoxic Antibodies.
Lancet 1, 785
80. ERVE, P. R., EARNEST, W., SCHUMER, W. (1975) - Antiendotoxic effect of water-soluble analogs of glucocorticoids.
J. Surg. Res. 18, 567

81. EURENIUS, K., MORTENSEN, R. F. (1971) - The phytohemagglutinin (PHA) response in thermally injured rat.
Int. Arch. Allergy 40, 707
82. EVANS, R., ALEXANDER, P. (1972) - Mechanisms of immunologically specific killing of tumor cells by macrophages.
Nature 236, 168
83. FABRICIUS, H. A., ENGELHARDT, R., STAHN, R. (1979) - Bluttest erfaßt unbekannte Tumoren.
Hospitel Tribune 11, 3
84. FAUCI, A. S., DALE, D. C. (1974) - The effect of in vivo hydrocortisone on subpopulations of human lymphocytes.
J. Clin. Invest. 53, 240
85. FAUCI, A. S. (1975 a) - Human bone marrow lymphocytes:
I. Distribution of lymphocyte subpopulations in the bone marrow of normal individuals.
J. Clin. Invest. 56, 98
86. FAUCI, A. S. (1975 b) - Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations.
I. Redistribution of circulating T- and B-lymphocytes to the bone marrow.
Immunology 28, 669
87. FAUCI, A. S., DALE, D. C. (1975) - The effect of hydrocortisone on the kinetics of normal human lymphocytes.
Blood 46, 235
88. FAUCI, A. S. (1976) - Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations.
II. Differential of in vivo hydrocortisone, prednisolone and dexamethasone on in vitro expression of lymphocyte function.
Clin. Exp. Immunol. 24, 54
89. FAUCI, A. S., DALE, D. C., BALOW, J. E. (1976) - Glucocorticoid therapy: Mechanisms of action and clinical considerations.
Ann. Int. Med. 84, 304
90. FELDMANN, J. L., BECKER, M. J., MOUTSOPOLOUS, H., FEYE, K., BLACKMAN, M., EPSTEIN, W. V. and TALAL, N. (1976) - Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in selected autoimmune diseases.
J. Clin. Invest. 58, 173

91. FERRARINI, M., MORETTA, L., ABRILE, R., DURANTE, M. L.
(1975) - Receptors for IgG molecules on human lymphocytes forming spontaneous rosettes with sheep red cells.
Eur. J. Immunol. 5, 70
92. FESTENSTEIN, H. (1968) - Mouse peripheral-blood lymphocytes in culture.
Lancet 1, 182
93. FOLCH, H., WAKSMAN, B. H. (1973) - Regulation of lymphocyte responses in vitro. V. Suppressor activity of adherent and nonadherent rat lymphoid cells.
Cell. Immunol. 9, 12
94. FOTINO, M., MERSON, E. J., ALLEN, F. H. (1971) - Micro-method for rapid separation of lymphocytes from peripheral blood.
Ann. Clin. Lab. Sci. 1, 131
95. FREIENSTEIN, S. M., FREIENSTEIN, S., KINZEL, W., SÜSS, R. (1972) - A rapid microtechnique for incorporation studies in cell cultures.
Experientia 28, 243
96. FREUDENBERG, K. (1962) - Grundriß der medizinischen Statistik.
Schattauer Verlag; Stuttgart
97. FRIEND, D. S., ROSENAU, W. (1977) - Target-cell membrane alterations induced by lymphotoxin.
Ultrastructural observation.
Am. J. Pathol. 86, 149
98. FRÖLAND, S., NATVIG, J. B., BERDAL, P. (1971) - Surface-bound immunoglobulin as a marker of B-lymphocytes in man.
Nature N. B. 234, 251
99. FRÖLAND, S. S., NATVIG, J. B. (1973) - Identification of three different human lymphocyte populations by surface markers.
Transplant. Rev. 16, 114
100. FUKUDA, T., OKADA, M., KOBAYASHI, T. (1964) - On the mechanisms of protection of endotoxin shock by glucocorticoids.
Jap. J. Physiol. 14, 560
101. GATIEN, J. G., SCHNEEBERGER, E. E., MERLER, E. (1975) - Analysis of human thymocyte subpopulations using discontinuous gradients of albumin: precursor lymphocytes in human thymus.
Europ. J. Immunol. 5, 312

102. GAYL-PECZALSKA, K., HANSEN, J. A., BLOOMFIELD, C. D., GOOD, R. A. (1973) - B-lymphocytes in untreated patients with malignant lymphoma and Hodgkin's disease.
J. Clin. Invest. 52, 3064
103. GEHA, R. S., MERLER, E. (1974) - Response of human thymus derived (T) and non-thymus-derived (B) lymphocytes to mitogenic stimulation in vitro.
Eur. J. Immunol. 4, 193
104. GELFAND, E. W., PARKMAN, R., ROSEN, F. S. (1975) - Lymphocytotoxins and immunologic unresponsiveness.
Birth Defects 11, 158
105. GERSHON, R. K., GERY, I., WAKSMAN, B. H. (1974) - Suppression effects of in vivo immunization on PHA responses in vitro.
J. Immunol. 112, 215
106. GIUSTINO, V., DUDLEY, F. J., SHERLOCK, S. (1972) - Thymus-dependent lymphocyte function in patients with hepatitis-associated antigen.
Lancet 2, 850
107. GLASER, E. (1975) - Zum Problem der sogenannten Schock-lunge.
Med. Welt 26, 855
108. GLENN, T. M. (1974) - Steroids and shock.
University Park Press, Baltimore, London, Tokyo
109. GOLDSCHNEIDER, I. and COGEN, R. B. (1973) - Immunoglobulin molecules on the surface of activated lymphocytes in the rat.
J. Exp. Med. 138, 163
110. GRABNER, W. (1975) - Zur Schockbehandlung mit Kortikoiden.
Klinikerzt 6, 215
111. GRAHAM, R. C., KARNOVSKY, M. J. (1966) - The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubulus of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique.
J. Histochem. Cytochem. 14, 291
112. GRANGER, G. A., KOLB, W. P. (1968) - Lymphocyte in vitro cytotoxicity: Mechanisms of immune and non-immune small lymphocyte mediated target L-cell destruction.
J. Immunol. 101, 111

113. GRANGER, G. A., WILLIAMS, T. W. (1968) - Lymphocyte cytotoxicity in vitro: Activation and release of a cytotoxic factor.
Nature 218, 1253
114. GRANGER, G. A. (1970) - Mechanisms of lymphocyte-induced cell and tissue destruction in vitro.
Am. J. Pathol. 60, 469
115. GRANGER, G. A., WILLIAMS, T. W. (1971) - Lymphocyte effector molecules: Mechanism of human lymphotoxin induced in vitro target cell destruction and role in PHA-induced lymphocyte - target cell lysis.
In: Progress in Immunology pp. 437 - AMOS, B. (Herausg.),
Academic Press New York
116. GRANGER, G. A., LASERNA, E. C., KOLB, W. P., CHAPMAN, F. (1973) - Human lymphotoxin: Purification and some properties.
Proc. Natl. Acad. Sci. 70, 27
117. GREAVES, M. F., BAUMINGER, S. (1972) - Activation of T- and B-lymphocytes by insoluble phytohemagglutinins.
Nature 235, 67
118. GREAVES, M. F., JANOSSY, G. (1972) - Elicitation of selective T- and B-lymphocyte responses by cell surface binding ligands.
Transplant. Rev. 11, 87
119. GREAVES, M. F., OWEN, J. J. T., RAFF, M. C. (1974) - T- and B-lymphocytes, origin, properties and role in immune responses.
Excerpta Medica Amsterdam - p. 98
120. GREEN, J. A., COOPERBAND, S. R., RUTSTEIN, J. A., KIBRICK, S. (1970) - Inhibition of target cell proliferation by supernatants from cultures of human peripheral lymphocytes.
J. Immunol. 105, 48
121. GROSS, N. J., HOLT, P. J. (1977) - Cell-mediated immunity in sarcoidosis: Effect of corticosteroids.
Brit. J. Dis. Chest. 71, 25
122. GUDAT, F., KRETH, A. W., DEICHER, D. (1971) - Lymphozytenstimulierung mit Phytohemagglutinin bei Patienten mit akuter chronischer Hepatitis. In: Leukozytenkulturen. BRITTINGER, G., ROGGENBACH, H. J.
Schattauer Verlag, Stuttgart

123. HAMMARSTRÖM, D., HELLSTRÖM, U., PERLMANN, P., DILLNER, M.-L (1973) - A new surface marker on T-lymphocytes of human peripheral blood.
J. Exp. Med. 138, 1270
124. HARDY, D. H., STEEL, C. M. (1971) - Cytotoxic potential of lymphocytes stimulated with autochthonous lymphoid cell line cells.
Experientia 27, 1336
125. HARRIS, A. W., BANKHURST, A. D., MASON, S., WARNER, N. L. (1973) - Differentiated functions expressed by cultured mouse lymphoma cells. II. O antigen, surface immunoglobulin and a receptor for antibody on cells of a thymoma cell line.
J. Immunol. 110, 431
126. HAUSS, W. H., SCHMITT, G., WINTER, R., PAPAVALASSILIOU, K. (1974) - Vorschlag zur Therapie des Herzinfarkts im Initialstadium.
Münch. Med. Wschr. 116, 485
127. HAVEMANN, K. and RUBIN, A. D. (1968) - The delayed response of chronic lymphocytic leukemia lymphocytes to phytohemagglutinin in vitro.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 668
128. HAYHOE, F. G. J. SINKS, L. F. and FLEMANS, R. J. (1966) - The lymphocyte in immunology and haemopoiesis, YOFFEY, J. M., ed.
Edward Arnold Publishers Ltd., London
129. HEDFORS, E., HOLM, G., PETERSON, D. (1974) - Lymphocyte subpopulations in sarcoidosis.
Clin. Exp. Immunol. 17, 219
130. HEILMANN, D. H., GAMBRILL, M. R., LEICHNER, J. P. (1973) - The effect of hydrocortisone on the incorporation of tritiated thymidine by human blood lymphocytes cultured with phytohemagglutinin and pokeweed mitogen.
Clin. Exp. Immunol. 15, 203
131. HEINE, H., TRENKEL, K., ARBOGAST, R., EISENBACH, J. (1980) - Funktionelle Morphologie von Endstrombahn und Transitstrecke: Probleme beim Schock.
Med. Welt 31, 558
132. HEISE, E. R., WEISER, R. S. (1969) - Factors in delayed sensitivity: Lymphocyte and macrophage cytotoxins in the tuberculin reaction.
J. Immunol. 103, 570

133. HENNEY, C. S., GAFFNEY, J., BLOOM, B. R. (1974) - On the relation of products of activated lymphocytes to cell mediated cytotoxicity.
J. Exp. Med. 140, 837
134. HIRST, J. A., BEVERLEY, P. C. L., KISIELOW, P., HOFFMANN, M. K., OETGEN, H. F. (1975) - Ly antigens: markers of T-cell function on mouse spleen cells.
J. Immunol. 115, 1555
135. HISERODT, J. C., FAIR, D. S., GRANGER, G. A. (1976) - Identification of multiple cytolytic components associated with the beta-LT class of lymphotoxins released by mitogen-activated human lymphocytes in vitro.
J. Immunol. 117, 1503
136. HISERODT, J. C., GRANGER, G. A. (1976) - In vitro lymphocyte cytotoxicity: II. Unstable lymphotoxins (beta-LT) secreted and inactivated by mitogen-stimulated human lymphocytes.
Cell. Immunol. 26, 211
137. HISERODT, J. C., PRIEUR, A. M., GRANGER, G. A. (1976) - In vitro lymphocyte cytotoxicity: Evidence of multiple cytotoxic molecules secreted by mitogen-activated human lymphoid cells in vitro.
Cell. Immunol. 24, 277
138. HOFF, F. (1929) - Über den Einfluß von Bakterienstoffen auf das Blut.
Zschr. exper. Med. 67, 615
139. HOFF, F. (1957) - Fieber, unspezifische Abwehrvorgänge, unspezifische Therapie.
pp. 18, 59 - Thieme Verlag, Stuttgart
140. HOLZMAN, R. S., LEBOWITZ, A. S., VALENTINO, F. T., LAWRENCE, H. S. (1973) - Preparation and properties of cloning inhibitory factor: I. Inhibition of HELA-cell cloning by stimulated lymphocytes and their culture supernatants.
Cell. Immunol. 8, 249
141. HORN, R. G., COLLINS, R. D. (1969) - Granulocyte (PMN) accumulation and fragmentation in lung capillaries in the generalized Shwartzman reaction (GSR).
Fed. Proc. 27, 355
142. HORWITZ, D. L., MOQUIN, R. B., HERMAN, C. M. (1972) - Coagulation changes of septic shock in the subhuman primate and their relationship to hemodynamic changes.
Ann. Surg. 175, 417

143. HOWARD, R. J., SIMMONS, R. L. (1974) - Acquired immunologic deficiencies after trauma and surgical procedures. Surg. Gynec. Obstet. 139, 771
144. HULLINGER, L., BLASCOVIEC, A. A. (1967) - A simple and efficient method of separating peripheral blood leucocytes for in vitro studies. Lancet 1, 1304
145. INGLE, D. J. (1938) - Atrophy of thymus in normal and hypophysectomized rats following the administration of cortin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 38, 443
146. JACOBSSON, H., BLOMGREN, H. (1975) - Evidence of different cell populations in the mouse thymus releasing and responding to mitogenic factor. Scand. J. Immunol. 4, 791
147. JANISCH, H. D., KESSEL, M. E. (1978) - Ergebnisse der Behandlung des Myokardinfarkts mit hochdosierter Kortison-Strophantin-Therapie. Prakt. Arzt 4, 408
148. JANOSSY, G. and GREAVES, M. F. (1971) - Lymphocyte activation. I. Response of T- and B-lymphocytes to phytomitogens. Clin. Exp. Immunol. 9, 483
149. JANOSSY, G., GREAVES, M. F. (1972) - Lymphocyte activation: I. Discriminating stimulation of lymphocyte subpopulations by phytomitogens and heterologous antilymphocyte sera. Clin. Exp. Immunol. 10, 525
150. JANOSSY, G. and GREAVES, M. F. (1975) - Functional analysis of murine and human B-lymphocyte subsets. Transplant. Rev. 24, 177
151. JEFFERY, J. R., GUTTMANN, R. D., CHARPENTIER, B. (1976) - in vitro monitoring of cadaver kidney donor pretreatment by lymphocyte culture. Clin. Exp. Immunol. 25, 437
152. JEFFES, E. W. B., GRANGER, G. A. (1975) - Relationship of cloning inhibition factor, "lymphotoxin" factor, and proliferation inhibition factor release in vitro by mitogen-activated human lymphocytes. J. Immunol. 114, 64
153. JOHNSON, R. L., FINK, C. W., ZIFF, M. (1972) - Lymphotoxin formation by lymphocytes and muscle in polymyositis. J. Clin. Invest. 51, 2435

154. JONDAL, M., HOLM, G., WIGZELL, H. (1972) - Surface markers on human T- and B-lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red blood cells.
J. Exp. Med. 136, 207
155. JONDAL, M., WIGZELL, H., AIUTI, F. (1973) - Human lymphocyte subpopulations classification according to surface markers and - or functional characteristics.
Transplant. Rev. 16, 163
156. JONDAL, M., KLEIN, G. (1973) - Surface markers on human B- and T-lymphocytes. II. Presence of Epstein-Barr virus receptors on B-lymphocytes.
J. Exp. Med. 138, 1365
157. JUY, D., CAVAILLON, J. M., BONA, C. (1976) - Influence of injection of cortisone acetate on blast transformation and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in rabbit.
Ann. Immunol. (Paris) 127, 187
158. KARPAS, A. (1977) - Ahumoral cytotoxic substance produced by a human killer cell line.
Br. J. Cancer 36, 437
159. KEIGHTLEY, R. G., COOPER, M. D. and LAWTON, A. R. (1976) - The T-cell dependence of B-cell differentiation induced by pokeweed mitogen.
J. Immunol. 117, 1538
160. KISIELOW, P., HIRST, J. A., SHIKU, H., BEVERLEY, P. C. L., HOFFMANN, M. K., BOYSE, E. A., OETTGEN, H. F. (1975) - Ly antigens as markers for functionally distinct subpopulations of thymusderived lymphocytes of the mouse.
Nature 253, 219
161. KNAPP, W. (1977) - Charakterisierung der Lymphozyten-Subpopulationen des Menschen.
Dtsch. Med. Wschr. 102, 802
162. KNORPP, K. (1975) - Schocktherapie.
Med. Welt 26, 1476
163. KÖNIG, E., COHNEN, G., BRITTINGER, G. and DOUGLAS, D. D. (1972) - Response to phytohaemagglutinen and pokeweed mitogen in chronic lymphocytic leukaemia.
Lancet 1, 795
164. KOLB, W. P., GRANGER, G. A. (1968) - Lymphocyte in vitro cytotoxicity: Characterization of human lymphotoxin.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 61, 1250

165. KRAMER, J. J., GRANGER, G. A. (1973) - In vitro mechanism of human lymphotoxin action: destruction of nondividing target cells.
Cell. Immunol. 6, 153
166. KRAVIS, T. C., AHMED, A., BROWN, T. E., FULMER, J. D., CRYSTAL, R. C. (1976) - Pathogenic mechanisms in pulmonary fibrosis. Collagen-induced migration inhibition factor production and cytotoxicity mediated by lymphocytes.
J. Clin. Invest. 58, 1223
167. KUNITOMI, G., ROSENAU, W., BURKE, G. C., GOLDBERG, M. L. (1975) - Alterations in RNA synthesis in lymphotoxintreated target cells.
Am. J. Pathol. 80, 249
168. KADOULIS, C. T., MISRA, D. N., ESTES, L. W. and GILL, T. J., III. (1974) - Lymphocyte plasma membranes. I. Thymic and splenic membranes from inbred rats.
Biochem. Biophys. Acta 356, 27
169. LASCH, H. G., HEENE, D. L., HUTH, K., SANDRITTER, W. (1967) - Pathophysiology, clinical manifestations and therapy of consumption-coagulopathy ("Verbrauchskoagulopathie").
Am. J. Cardiol. 20, 381
170. LASCH, H. G., HUTH, K., HEENE, D. L., MÜLLER-BERGHHAUS, G., HÖRDER, M. H., JANZARIK, H., MITTERMAYER, Ch., SANDRITTER, W. (1971) - Die Klinik der Verbrauchskoagulopathie.
Dtsch. Med. Wschr. 96, 715
171. LASCH, H. G. (1978) - Klinik und Pathophysiologie des Schocks.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 62, 2
172. LAY, W. H., MENDES, N. F., BIANCO, C. and NUSSENZWEIG, V. (1971) - Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes.
Nature (London), 230, 531
173. LECKBAND, E., BOYSE, E. A. (1971) - Immunocomplement cells among mouse thymocytes: a minor population.
Science 171, 1258
174. LEE, S.-C., LUCAS, Z. J. (1975) - T-cell regulation of T-cell function.
Fed. Proc. 34, 1030

175. LEE, T. P. (1977) - Effects of histamine-sensitizing factor and cortisol on lymphocyte adenylyl cyclase response.
J. Allergy. Clin. Immunol. 59, 79
176. LEGUIT, P., MEINESZ, A., ZEIJLEMAKER, W. P. SCHELLEKENS, P. F. A., EIJSVOGEL, V. P. (1973) - Immunological studies in burn patients. I. Lymphocyte transformation in vitro.
Int. Arch. Allergy. 44, 101
177. LEVINE, M. A., CLAMAN, H. H. (1970) - Bone marrow and spleen: Dissociation of immunologic properties by cortisone.
Science 167, 1515
178. LIEPINS, A., FAANES, R. B., LIFTER, J., CHOI, Y. S., DE HARVEN, E. (1977) - Ultrastructural changes during T-lymphocyte-mediated cytotoxicity.
Cell. Immunol. 28, 109
179. LIES, R. B., PETER, J. B. (1973) - Cyclic AMP inhibition of cytotoxicity ("lymphotoxicity") elaboration by stimulated lymphocytes.
Cell. Immunol. 8, 332
180. LILLEHEI, R. C., DIETZMAN, R. H., MOTSAI, G. J., BECKMANN, C. H., ROMERO, L. H., SHATNEY, C. H. (1974) - Growth of concept of shock and review of present knowledge. In Steroids and shock. p. 377. Glenn, T. M. (Herausg.) - University Park Press, Baltimore, London, Tokyo
181. LIN, P. S., COOPER, A. G., WORTIS, H. H. (1973) - Scanning electron microscopy of human T-cell and B-cell rosettes.
N. Engl. J. Med. 289, 548
182. LOBO, R. I., WESTERVELT, F. B., HORWITZ, D. A. (1975) - Identification of two populations of immunoglobulin-bearing lymphocytes man.
J. Immunol. 114, 116
183. LOBO, R. I., HORWITZ, D. A. (1976) - An appraisal of Fc receptors on human peripheral blood B- and L-lymphocytes.
J. Immunol. 117, 939
184. LOHMANN-MATTHES, M., KOSUNEN, T. U., FISCHER, H. (1972) - Kinetics of the in vitro development of cytotoxicity against alloantigens.
Int. Arch. Allergy 42, 110

185. LOHMANN, MATTHES, M. L., ZIEGLER, F. G., FISCHER, H.
(1973) - Macrophage cytotoxicity factor. A product of
in vitro sensitized thymus dependent cells.
Europ. J. Immunol. 3, 56
186. LOOR, F., ROELANTS, G. E. (Herausg.) (1977) - B- and
T-cells in immune recognition.
John Wiley & Sons, London, New York, Sidney - Toronto
187. LUNDSGAARD-HANSEN, P. (1975) - Pathophysiologie und Therapie des septischen Schocks.
Fortschritte der Medizin 93, 471
188. LUNDSGAARD-HANSEN, P. (1974) - Septischer Schock.
Zbl. Chir. 99, 417
189. MAHLER, D., BATCHELOR, J. R. (1971) - Phytohaemagglutinin transformation of lymphocytes in burned patients.
Transplant. 12, 409
190. MALAVE, I., LAYRISSE, Z. and LAYRISSE, M. (1975) -
Dose-dependent hyporeactivity to phytohemagglutinin in systemic lupus erythematosus.
Cell. Immunol. 15, 231
191. MARCHALONIS, J. J. and CONE, R. E. (1973) - Isolation of surface immunoglobulin from lymphocytes from human and murine thymus.
Nature New. Biol. 235, 240
192. MARCHALONIS, J. J. and CONE, R. E. (1973) - Biochemical and biological characteristics of lymphocyte surface immunoglobulin.
Transplant. Rev. 14, 3
193. MARCHALONIS, J. J., CONE, R. E. and von BOEHMER, H.
(1974) - Surface immunoglobulins of peripheral thymus-derived lymphocytes.
Immunochem. 11, 271
194. MARCHALONIS, J. J., CONE, R. E. and ROLLEY, R. T. (1973) - Amplification of thymus-influenced lymphocytes by Poly (A : U): inhibition of antigen binding by anti-serum to immunoglobulin light chain.
J. Immunol. 110, 561
195. MASON, D. Y., FARRELL, C., TAYLOR, C. R. (1975) - The detection of intracellular antigens in human leucocytes by immunoperoxidase staining.
Brit. J. Haemat. 31, 361

196. MEDAU, H. J. (1973) - Glukokortikoid-Therapie in der inneren Medizin. Pharmakodynamische Therapie. Med. Welt, 24, 1589
197. MEGLA, G. K. (1975) - Herstellung von Blutfilmen durch rheologisch kontrolliertes Schleudern. Med. Labor. 28, 251
198. MITTAL, K. K., FERRONE, S., MICKEY, M. R., PELLEGRINO, M. A., REISFELD, R. A., TERASAKI, P. I. (1973) - Serological characterization of natural antihuman lymphocytotoxic antibodies in mammalian sera. Transplantation 16, 287
199. MITTERMAYER, Ch., HAAS, W., DOTH, U. (1975) - Schock-lunge: Irreversibilität des Prozesses infolge Stimulierung der pulmonalen Zellproliferation. In: H. HASCHEK: Der septische Schock, Egerman, Wien.
200. MITTERMAYER, Ch., OSTENDORF, P., RIEDE, U. N. (1977) - Pathologisch - anatomische Untersuchung bei der respiratorischen Insuffizienz durch Schock. I. Lichtmikroskopische und biochemische Analysen. Intensivmed. 14, 252
201. MÖLLER, G. (1975) (Herausg.) - Suppressor T-lymphocytes. Transplant. Rev. Vol. 26
202. MORETTA, L., FERRARINI, M., DURANTE, M. L., MINGARI, M. C. (1975) - Expression of a receptor for IgM by human T-cells in vitro. Eur. J. Immunol. 5, 565
203. MOROZ, C. and HAHN, Y. (1973) - Cell-surface immunoglobulin of human thymus cells and its biosynthesis in vitro. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 3716
204. MORRISON, J., REDUTO, L., PIZZARELLO, R., GELLER, K., MALEY, T., GULOTTA, S. (1976) - Modification of myocardial injury in man by corticoid administration. Circulation, 53, Suppl. I, 200
205. MORTENSEN, R. F., OSMAND, A. P., GEWURZ, H. (1975) - Effects of L-reactive protein on the lymphoid system. I. Binding to thymus-dependent lymphocytes and alteration of their functions. J. Exp. Med. 141, 821
206. MOTSAÏ, G. J., ROMERO, L. H., LILLEHEI, R. C. (1974) - Use of corticosteroids in the treatment of shock. Int. Surg. 59, 593

207. MÜLLER, H., NAGEL, R. (1979) - Verbesserte Therapieergebnisse bei Myokardinfarkt durch hochdosierte Methylprednisolonbehandlung.
Ther. d. Gegenw. 118, 1857
208. MÜLLER, A. (1967) - Makromolekulare Eisen (III)-Hydroxid-Komplexe.
Arzneimittelforschung 17, 921
209. MUNSTER, A. M., EUSENIUS, K., MORTENSEN, R. F., MASON, D. (1973) - Ability of splenic lymphocytes from injured rats to induce a graft-versus-host reaction.
Transplant. 14, 106
210. MUNSTER, A. M., EUSENIUS, K., KATZ, R. M., CANALES, L., FOLEY, F. D., MORTENSEN, R. F. (1973) - Cell-mediated immunity after thermal injury.
Ann. Surg. 177, 139
211. MUNSTER, A. M. (1976) - Posttraumatic immunosuppression is due to activation of suppressor T-cells.
Lancet 1, 1329
212. MUSCOPLAT, C. C., SHOPE, R. E. Jr., CHEU, A. W., JOHNSON, D. W. (1975) - Effects of corticosteroids on responses of bovine peripheral blood lymphocytes cultured with Phytohemagglutinin.
Am. J. Vet. Res. 36, 1243
213. NATVIG, J. B., PERLMANN, P., WIGZELL, H. (Herausg.) (1976) - Lymphocytes. Isolation, fractionation and characterization.
Scand. J. Immunol. 5, Suppl. 5
214. NEUHOF, H., HEY, D., GLASER, E., WOLF, H., LASCH, H. G. (1976) - Monitoring of shock patients by direct and continuous measurement of oxygen uptake.
In: Current topics in critical care medicine, p. 6.
SHOEMAKER, W. C., TRAVARES, B. M. (Herausg.) Basel
215. NEUHOF, H., PLATT, D., BRÄHLER, A., MÜLLER, P. (1977) - Die Wirkung von Prednisolon auf Letalität, Aktivität lysomaler Enzyme und Hämodynamik bei Endotoxinämie (Tierexperimentelle Untersuchungen).
Intensivmed. 14, 378
216. NOEL, E. P., FARID, N. R. (1975) - Lymphocytotoxic antibodies in organ-specific autoimmune disease.
Lancet 2, 502

217. OPPENHEIM, J. J., BLAESE, R. M., HORTON, J. E., THOR, D. E., GRANGER, G. A. (1973) - Production of macrophage migration inhibitory factor and lymphotoxin by leucocytes from normal and Wiskott-Aldrich syndrome patients.
218. PAPPAS, A., van SEEBACH, H. B., SCHWARZE, G., REIKOWSKI, H., JOST, H., JUNG, M., SCHEURLLEN, P. G. (1975) - Phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation and histologic findings in patients with chronic aggressive hepatitis before and during immunosuppressive therapy.
Beitr. Path. 156, 197
219. PARKHOUSE, R. M. E., ABNEY, E. R. (1977) - Biochemical approaches to receptors for antigen on B- and T-lymphocytes. In: B- and T-cells in immune recognition. p. 211. LOOR, F. and ROELANTS, G. E. (Herausg.) John Wiley & Sons, London
220. PARILLO, J. E., FAUCI, A. S. (1976) - Differential effects of dexamethasone (DEX) administration on subpopulations of effector cells mediating cellular cytotoxicity in humans.
Clin. Res. 24, 334 A
221. PEAVY, D. L., ADLER, W. H. and SMITH, R. T. (1970) - The mitogenic effects of endotoxin and staphylococcal enterotoxin B on mouse spleen cells and human peripheral lymphocytes.
J. Immunol. 105, 1435
222. PERLMAN, P., HOLM, G. (1969) - Cytotoxic effects of lymphoid cells in vitro.
Advant. Immunol. 11, 117
223. PERNIS, B., FORNI, L., AMANTE, L. (1970) - Immunoglobulin spots on the surface of rabbit lymphocytes.
J. Exp. Med. 132, 1001
224. PETER, H. H., EIFE, R. F., KALDEN, J. R. (1976) - Spontaneous cytotoxicity (SCMC) of normal human lymphocytes against a human melanoma cell line: a phenomenon due to a lymphotoxin-like mediator.
Immunol. 116, 342
225. PHILLIPS, B., ROITH, I. M. (1973) - Evidence for transformation of human B-lymphocytes by PHA.
Nature N. B. 241, 254
226. PIHL, E. (1967) - Ultrastructural localization of heavy metals by a modified sulfide-silver method.
Histochemie 10, 126

227. PINCUS, S., BIANCO, C. and NUSSENZWEIG, V. (1972) - Increased proportion of complement-receptor lymphocytes in the peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood 40, 303
228. PIPER, C. E., MC IVOR, K. L. (1975) - Alloimmune peritoneal macrophages as specific effector cells: Characterization of specific macrophage cytotoxin. Cell. Immunol. 17, 423
229. PLATT, D., NEUHOF, H., LEINWEBER, B., BRÄHLER, A., NORWIG, P. (1977) - Aktivitätsmessungen lysosomaler Enzyme im Verlauf einer Endotoxin-Dauerinfusion bei Kaninchen. Intensivmed. 14, 146
230. POLLIACK, A., LAMPEN, N., CLARKSON, B. D., De HARREN, E., BENTWICH, Z., SIEGAL, F. P., KUNKEL, H. G. (1973) - Identification of human B- and T-lymphocytes by scanning electron microscopy. J. Exp. Med. 131, 607
231. FREUD'HOMME, J. L., SELIGMANN, M. (1972) - Anti-human immunoglobulin G activity of membrane-bound monoclonal immunoglobulin M in lymphoproliferative disorders. Proc. Natl. Acad. Sci. 69, 2132
232. QUAGLINO, D. and COWLING, D. C. (1964) - Cytochemical studies on cells from chronic lymphocytic leukaemia and lymphosarcoma cultured with phytohaemagglutinin. Brit. J. Haemat. 10, 358
233. RAFF, M. C., CANTOR, H. (1971) - Subpopulations of thymus cells and thymusderived lymphocytes. In: Progress in immunology. p. 83. AMOS, B. (Herausg.) Academic Press, New York
234. RATLIFF, N. B., WILSON, J. W., MIKAT, E. (1970) - Altered leucocytes in pulmonary vessels of dogs in hemorrhagic shock. Microvasc. Res. 2, 7
235. REICHGOTT, M. J., MELMON, K. L. (1973) - Should corticosteroids be used in shock? Med. Clin. North Am. 57, 1211
236. REMMELE, W., BLEYL, H., CARSTENSEN, H. (1968) - Untersuchungen über die Cytologie des Blutes im Kreislaufschock. I. Die Cytologie des Zellkonzentrates bei Schockpatienten und bei Kaninchen mit Entblutungschock. Z. Exp. Med. 147, 333

237. REMMELE, W. (1968) - Zur pathologischen Anatomie des Kreislaufschocks beim Menschen. III. Ansammlungen von Blut- und Knochenmarkszellen in den Markgefäßen der Niere.
Klin. Wschr. 15, 803
238. RICH, R., RICH, S. (1975) - Biological expressions of lymphocyte activation. IV. Concanavalin A-activated suppressor cells in mouse mixed lymphocyte reactions.
J. Immunol. 114, 112
239. RIDDLE, P. R., BERENBAUM, M. C. (1967) - Postoperative depression of the lymphocyte response to phytohemagglutinin.
Lancet 1, 746
240. RIEDE, U. N., MITTERMAYER, Ch., HASSENSTEIN, J., BENSING, K., SANDRITTER, W. (1977 a) - Pathologisch-anatomische Untersuchungen bei der respiratorischen Insuffizienz durch Schock. II. Ultrastrukturell-morphometrische Befunde.
Intensivmed. 14, 263
241. RIEDE, U. N., HASSENSTEIN, J., COSTABLE, U., NEUHOF, H., MITTERMAYER, Ch. (1978) - Pathologisch-anatomische Untersuchungen bei der respiratorischen Insuffizienz durch Schock. III. Histomorphometrische Untersuchungen der Methylprednisolon-Wirkung auf die durch Endotoxin induzierte Schocklunge.
Intensivmed. 15, 119
242. ROAT, S., NEWELL, D., POLLIAK, A., ALEXANDER, E., LIN, P.-S. (1978) - Scanning electron microscopy and the surface morphology of human lymphocytes.
Nature, 273, 15
243. ROELANTS, G. E., RYDEN, A., HAGG, L. B. and LOOR, F. (1974) - Active synthesis of immunoglobulin receptors for antigen by T-lymphocytes.
Nature 247, 106
244. RÖLLINGHOFF, M., WAGNER, H., CONE, R. E. and MARCHALONIS, J. J. (1973) - Release of antigen-specific immunoglobulin from cytotoxic effector cells and syngeneic tumor immunity in vitro.
Nature N. B. 243, 21
245. RÜSSLER, R., HAVEMANN, K., DÖLLE, W. (1969) - Unterschiedliche Reaktionen von Lymphozyten auf Phytohämagglutinin (PHA) bei Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 47, 803

246. ROGERS, D. E., MELLY, M. A. (1957) - Studies on bacteremia. II. Further observations on the granulocytopenia induced by the intravenous injection of staphylococci.
J. Exp. Med. 105, 99
247. ROSENAU, W., MOON, H. D. (1962) - The inhibitory effect of hydrocortisone on lysis of homologous cells by lymphocytes in vitro.
248. ROSENAU, W., GOLDBERG, M. L., BURKE, G. C. (1973) - Early biochemical alterations induced by lymphotoxin in target cells.
J. Immunol. 111, 1128
249. ROSENAU, W., TSOUKAS, C. D. (1976) - Lymphotoxin: A review and analysis.
Am. J. Pathol. 84, 580
250. ROSENBERG, J. C., COLBURN, W. A., BRENNAN, P., LYSZ, K., PALUTKE, M., STUBBS, S. S., ROSENBERG, S. A. (1975) - In vitro effect of methylprednisolone on protein synthesis of activated canine thymus-derived lymphocytes.
Transplant. Proc. 7, 547
251. ROSENTHAL, D. J. and FRANKLIN, E. C. (1975) - Depression of cellular immunity in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 18, 207
252. ROSS, G. D., RABELLINO, E. M., POLEY, M. J. and GREY, H. M. (1973) - Combined studies of complement receptor and surface immunoglobulin-bearing cells and sheep erythrocyte rosette-forming cells in normal and leukemic human lymphocytes.
J. Clin. Invest. 52, 377
253. RUBIN, A. D., HAVEMAN, K. and DAMESHEK, W. (1969) - Studies in chronic lymphocytic leukemia: Further studies of the proliferative abnormality of the blood lymphocyte.
Blood 33, 313
254. RUDDLE, N. H., WAKSMAN, B. H. (1968) - Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. III. Analysis of mechanism.
Journal of Experimental Medicine 128, 1267
255. RUDDLE, N. H. (1972) - Approaches to the quantitative analysis of delayed hypersensitivity.
Microbiol. Immunol. 57, 75

256. RÜHL, H., VOGT, W., RÜHL, U., BORCHERT, G., SCHMIDT, S. (1973) - Stimulation corticon- und strahlenresistenter Mäuselymphozyten in vitro durch Phytohämagglutinin.
P (PHA), Pokeweed Mitogen (PWM) und Concanavalin A (CONA).
Klin. Wschr. 51, 1026
257. RUSSEL, S. W., ROSENAU, W., GOLDBERG, M. L., KUNITOMI, G. (1972) - Purification of human lymphotoxin.
J. Immunol. 115, 1370
258. RUSU, V. M., COOPER, M. D. (1975) - In vivo effects of cortisone on the B-cell line in chickens.
J. Immunol. 115, 1370
259. SACHS, L. (1969) - Statistische Auswertungsmethoden.
Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York
260. SANDERSON, C. J., FRANKS, D. (1975) - Effect of prednisolone on cell-mediated cytotoxicity in vitro. Demonstration of a short sensitive induction phase.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 48, 610
261. SANTANA, V., WEDDERBURN, N. and TURK, J. L. (1974) - Demonstration of immunoglobulin of the surface of thymus lymphocytes.
Immunology 27, 65
262. SAVEL, H., MOCHRING, T. (1971) - Lymphotoxin production in human neoplasia.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137, 374
263. SCHILLING, E. (1978) - Lymphozytenpopulationen bei der chronisch aggressiven Hepatitis (CAH), infektiösen Mononukleose, Dermatomyositis und Masern.
Inaugural-Dissertation am Bereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
264. SCHLAGER, S. I., OHANIAN, S. H., BORSOS, T. (1976) - Inhibition of antibody-complement mediated killing of tumor cells by hormones.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 17, 109
265. SCHÖNENBERGER, G. A., BURKHARDT, F., KALBERER, F., MÜLLER, F., STÄDTLER, K., VOGT, P., ALLGÖWER, M. (1975) - Experimental evidence for a significant impairment of host defence for gram-negative organisms by a specific cutaneous toxin produced by severe burn injuries.
Surg. Gyn. Obst. 141, 555

266. SCHUMACHER, K., MAERKER-ALZER, G. (1974) - Zellgebundene Immunreaktionen bei der chronischen Hepatitis.
In: Die chronische Hepatitis. p. 157. LINDNER, H., Witzstock, Baden-Baden, Brüssel
267. SCHULZ, V., SCHNABEL, K. H., SCHMIDT, W. (1974) - Untersuchungen zum pulmonalen Gasaustausch in der akuten Schockphase und nach Übergang in eine Schocklunge.
Klin. Wschr. 52, 624
268. SCHUMNER, W. (1969) - Dexamethasone in alogemic shock. Physiochemical effects in monkeys.
Arch. Surg. 98, 259
269. SCHUMNER, W., NYHUS, L. M. (1970) - Corticosteroid effects on biochemical parameters of human oliguric shock.
Arch. Surg. 100, 405
270. SCHUMNER, W., ERVE, P. R., OBERNOLTE, R. P. (1972) - Mechanisms of steroid protection in septic shock.
Surgery 72, 119
271. SCHUMNER, W. (1975) - Influence of pharmacologic agents on tissue metabolism in circulatory shock.
Crit. Care Med. 3, 109
272. SELYE, H. (1953) - Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom.
Stuttgart, Thieme
273. SENECA, H., GRANT, J. P., Jr. (1975) - Glucocorticoid therapy in sepsis/shock caused by gram-negative microorganisms.
J. Am. Geriatrics Soc. 23, 493
274. SENECA, H. (1976) - Glucocorticoids.
Antibiot. Chemother. 21, 198
275. SENGAR, D. P., RASHID, A., PERELMUTTER, L., HARRIS, J. E. (1975) - Lymphocytotoxins and mixed leucocyte culture blocking factor activity in the plasma of uraemic patients undergoing HAEMODIALYSIS.
Clin. Exp. Immunol. 20, 249
276. SHACKS, S. J., GRANGER, G. A. (1971) - Studies on in vitro models of cellular immunity.
J. Reticuloendotel. Soc. 10, 28
277. SHACKS, S. J., CHILLER, J., GRANGER, G. A. (1973) - Studies on in vitro models of cellular immunity: The role of T- and B-cells in the secretion of lymphotoxin.
Cell. Immunol. 7, 313

278. SHATNEY, C. H., DIETZMAN, R. M., LILLEHEI, R. C. (1976)-
Effects of early administration of corticosteroids
in clinical septic shock.
In: SHOEMAKER, W. C., TAVARES, B. M., E. D. Current
topics in critical care medicine. Basel, Karger
279. SHELDON, P. J., HOLBORROW, E. J. (1975) - Human erythro-
cyte rosette formation with mitogen-stimulated human
lymphocytes - a marker for the demonstration of acti-
vated T-cells.
J. Immunol. Method. 7, 379
280. SHORTER, R. G., HUIZENGA, K. A., SPENCER, R. J., GUY, S.
K. (1972) - Inflammatory bowel disease: The role of
lymphotoxin in the cytotoxicity of lymphocytes for
colonic epithelial cells.
Am. J. Dig. Dis. 17, 689
281. SHORTER, R. G., HUIZENGA, K. A., SPENCER, R. J., WEEDON,
D. (1973) - Lymphotoxin in nonspecific inflammatory
bowel disease lymphocytes.
Am. J. Dig. Dis. 18, 79
282. SHUSTIK, C., COHEN, I. R., SCHWARTZ, R. S., LATHAM-
GNIFFIN, E. (1976) - T-lymphocytes with promiscuous
cytotoxicity.
Nature 263, 649
283. SIGNAL, D. P., YOUNGLAI, E. V., NAIPAUL, N. (1975) -
Inhibition of the mixed leucocyte culture reaction
by plasma from renal transplant recipients.
Tissue Antigens, 5, 19
284. SIMON, J., MAR., P., NEU, I., KAMM, S., SCHRADER, A.
(1980) - Längsschnittstudie immunologischer Parameter
bei Multiple Sklerose-Kranken.
Nervenarzt 51, 176
285. SMITH, M. G. M., GOLDING, P. L., EDDLESTON, A. L. W. F.,
MITCHELL, C. G., KEMP, A., WILLIAMS, R. (1972) -
Cell-mediated immune responses in chronic liver
diseases.
Br. Med. J. 6, 527
286. SMITH, R. W., TERRY, W. D., BUELL, D. N. and SELL, K. W.
(1973) - An antigenic marker for human thymic lympho-
cytes.
J. Immunol. 110, 884
287. SMITH, M. E., LANDICO, R., PAPERMASTER, B. W. (1977) -
A rapid quantitative assay for lymphotoxin.
J. of Immunological methods 14, 243

288. SPRENT, J., MILLER, J. F. A. P. (1972 a) - Antigen-induced selective reinitment of circulating lymphocytes. III. Immunological characteristics of recirculating lymphocytes derived from activated thymus cells.
Cell. Immunol. 3, 213
289. SPRENT, J., MILLER, J. F. A. P. (1972 b) - Interaction of thymus lymphocytes with histoincompatible cells. II. Recirculating lymphocytes derived from antigen-activated thymus cells.
Cell. Immunol. 3, 385
290. SPRENT, J., MILLER, J. F. A. P. (1973) - Effect of recent antigen priming on adoptive immun responses. I. Specific unresponsiveness of cells from lymphoid organs of mice primed with heterologous erythrocytes.
J. Exp. Med. 138, 143
291. SPRENT, J. (1976) - Fate of H-2-activated T-Lymphocytes in syngenic hosts. I. Fate in lymphoid tissues and intestines traced with ^3H -thymidine, ^{125}I -deocytidine and ^{51}Cr Chromium.
Cell. Immunol. 21, 278
292. STATHOPOULOS, G., ELLIOT, E. V. (1974) - Formation of mouse or sheep red-blood-cell rosettes by lymphocytes from normal and leukaemic individuals.
Lancet 1, 600
293. STEFFEN, C., THUMB, N., FRANK, O., EBERL, O., TAUSCH, G., BORDS, M. (1973) - Demonstration of lymphocytotoxins in rheumatoid arthritis in comparison with clinical course and other antibody activities.
294. STEIN, H., PETERSEN, N., GAEDICKE, G., LENNERT, K., LANDBECK, G. (1976) - Lymphoblastic lymphoma of convoluted on acid phosphatase type - a tumor of T precursor cells.
Int. J. Cancer 17, 292
295. STEINBEREITHNER, K. (1976 a) - Die Lunge im Schock.
Zbl. Chir. 101, 65
296. STEINBEREITHNER, K. (1976 b) - Postoperative und post-traumatische Ateminsuffizienz.
Chirurg. 47, 171
297. STENSZKY, V., NAGY, E., SZERZE, P. (1975) - Examination of HL-A antigens and lymphocytotoxic antibodies in discoid lupus erythematosus.
Acta. Derm. Venerol. (Stockh.) 55, 131

298. STERNBERGER, L. A. (1974) - Immunocytochemistry, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey
299. STOBO, J. D., PAUL, W. E. (1973) - Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. III. Differential responsiveness of T-cells to phytohemagglutinin and concanavalin A as a probe for T-cell subsets. J. Immunol. 110, 362
300. STOUT, R. D. and HERZENBERGER, L. A. (1975) - The F_C-receptor on thymus derived lymphocytes. II. Mitogen responsiveness of T-lymphocytes bearing the F_C-receptor. J. Exp. Med. 142, 611
301. STRICKLAND, R. G., MILLER, W. C., VOLPIELLI, N. A., GAEKE, R. F., WILSON, I. D., KRISNER, J. B., WILLIAMS, R. C. Jr. (1977) - Lymphocytotoxic antibodies in patients with inflammatory bowel disease and their spouses evidence for a transmissible agent. Clin. Exp. Immunol. 30, 188
302. SVEDMYR, E., WIGZELL, H., JONDAL, M. (1974) - Sensitization of human lymphocytes against autologous or allogeneic lymphoblastoid cell lines: characteristics of the reactive cells. Scand. J. Immunol. 3, 499
303. TAKIGUCHI, T., ADLER, W. H., SMITH, R. T. (1971) - Cellular recognition in vitro by mouse lymphocytes. Effects of neonatal thymectomy and thymus graft restoration on alloantigen and PHA stimulation of whole and gradient-separated subpopulations of spleen cells. J. Exp. Med. 133, 63
304. TARGOWSKI, S. P. (1975) - Effect of prednisolone on the leucocyte counts of ponies and on the reactivity of lymphocytes in vitro and in vivo. Infect. Immun. 11, 252
305. THOMAS, C. S., Jr., BROCKMAN, S. K. (1968) - The role of adrenal corticosteroid therapy in Escherichia coli endotoxin shock. Surg. Gynec. Obstet. 126, 61
306. THOMAS, D. A., PHILLIPS, B. (1973) - Membrane antigens specific for human lymphoid cells in the dividing phase. J. Exp. Med. 138, 64
307. TILKES, F. (1977) - Persönliche Mitteilung. Hygiene Institut d. J.-L.-U. Gießen

308. TILLING, W., KNICK, B. (1960) - Pharmakodynamische Corticosteroidtherapie des akuten toxischen Lungenödems.
Med. Klin. 35, 1533
309. TIMM, F. (1958) - Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfid-Silververfahren.
Dtsch. Z. ges. geschichtl. Med. 46, 706
310. TOBIAS, H., SAFRAN, A. P., SCHAFFNER, F. (1967) - Lymphocyte stimulation and chronic liver disease.
Lancet 1, 193
311. TRAXEL, W. (1974) - Grundlagen und Methoden der Psychologie.
H. Huber Verlag; Bern
312. TSUTSUI, I., EVERETT, N. B. (1974) - Specific versus nonspecific target cell destruction by T-lymphocytes sensitized in vitro. II. Responsible factors for nonspecific destruction.
Cell. Immunol. 10, 359
313. TÜRK, W. (1898) - Klinische Untersuchungen über das Verhalten des Blutes bei akuten Infektionskrankheiten.
W. Baumüller, Wien
314. UNANUE, E. R., GREY, H. M., RABELLINO, P., CAMPBELL, P. and SCHMIDTKE, J. (1971) - Immunoglobulins on the surface of lymphocytes of the bone marrow as the main source of lymphocytes with detectable surface-bound immunoglobulins.
J. Exp. Med. 133, 1188
315. WAHL, S. M. (1975) - Corticosteroid inhibition of chemotactic lymphotoxine production by T- and B-lymphocytes.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 256, 375
316. WAHL, S. M., ALTMAN, L. C., ROSENSTREICH, D. L. (1975) - Inhibition of in vitro lymphokine synthesis by Glucocorticosteroids.
J. Immunol. 115, 476
317. WALKER, S. M., LUCAS, Z. J. (1973) - Role of soluble cytotoxins in cell-mediated immunity.
Transplant. Proc. 5, 137
318. WALKER, S. M. (1975) - Mitogen activated lymphocytes elaborate two different cytotoxins.
Fed. Proc. 5, 137

319. WALKER, M. W., LEV, J. (1975) - Statistische Methoden für Psychologen, Soziologen und Pädagogen. Beltz Verlag; Weinheim, Basel
320. WARNER, N. L. (1974) - Membrane immunoglobulins and antigen receptors on B- and T-lymphocytes. Adv. Immunol. 19, 67
321. WEIL, M. H. (1970) - Experimentelle Untersuchungen zur Anwendung von Kortikosteroiden für die Behandlung eines Schocks nach Endotoxin oder Blutverlust. In: Schock, Stoffwechseleränderungen und Therapie. ZIMMERMANN, W., STAIB, I. (Herausg.) Schattauer, Stuttgart
322. WEIL, M. H., STUBIN, H., NISHIJIMA, H. (1974) - Corticosteroid therapy in circulatory shock. Int. Surg. 59, 589
323. WEISER, A., CLOWES, G. H. A., Jr., COLMAN, R. W., TALAMO, R. (1973) - Sepsis und Endotoxämie bei Schweinen: Ein Vergleich von Mortalität und Pathophysiologie. In: Neue Aspekte der Transfusionstherapie, Vol. 6, HABERLAND, G. L., LEWIS, D. H. (Herausg.), F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart
324. WICHERT, P. (1977) - Therapeutische und prophylaktische Ansatzpunkte bei "Schocklunge". Dtsch. Med. Wschr. 102, 444
325. WILLIAMS, T. W., GRANGER, G. A. (1969) - Lymphocyte in vitro cytotoxicity: Correlation of depression with release of lymphotoxin from human lymphocytes. J. Immunol. 103, 170
326. WILSON, J. W., RATLIFF, N. B., MIKAT, E., HACKEL, D. B., YOUNG, W. G., GRAHAM, T. C. (1971) - Leucocyte changes in the pulmonary circulation. Chest (Suppl.) 59, 36
327. WILSON, J. W. (1972) - Treatment or prevention of pulmonary cellular damage with pharmacologic doses of corticosteroids. Surg. Gynec. Obstet. 134, 675
328. WINCHESTER, R. J., FU, S. M., HOFFMAN, T. and KUNKEL, H. G. (1975) - IgG on lymphocyte surfaces; technical problems and the significance of a third cell population. J. Immunol. 114, 1210

329. WYBRAN, J., CARR, M. C., FUDENBERG, H. H. (1973) - Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease state: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections, and other diseases. J. Clin. Invest. 52, 1026
330. YOSHIDA, T. O., ANDERSSON, B. (1972) - Evidence for a receptor recognizing antigen complexed immunoglobulin on the surface of activated mouse thymus lymphocytes. Scand. J. Immunol. 1, 401
331. YOSHIAGA, M., WAKSMAN, B. H., MALAWISTA, S. E. (1972) - Cytochalasin B inhibits lymphotoxin production by antigen-stimulated lymphocytes. Science 176, 1147
332. YU, D. T. Y., CLEMENTS, P. T., PAULUS, H. E., PETER, J. B., LEVY, J., BARNETT, E. V. (1974) - Human lymphocyte subpopulations. Effect of corticosteroids. J. Clin. Invest. 53, 565
333. ZATZ, M. M., LANCE, E. M. (1971) - The distribution of ⁵¹Cr-labeled lymphocytes into antigen-stimulated mice. J. Exp. Med. 134, 224
334. ZWEIFACH, B. W. (1961) - Aspects of comparative physiology of laboratory animals relativ to the problem of experimental shock. Fed. Proc. 20 Suppl. 9, 18

Für die freundliche Überlassung des Themas meiner
Dissertation danke ich Herrn Privatdozent
Dr. med. J. F. Desaga. Insbesondere hat er
mir durch seine aktive Betreuung in jeder Phase
der Arbeit sehr viel geholfen.

Herrn Prof. Dr. Dr. H. G. Lasch danke ich für die
stete Unterstützung bei der Bereitstellung von
Patienten und die Ermöglichung der Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. H. Löffler bin ich für sein
Interesse am Fortgang der Untersuchung dankbar.

Allen Mitarbeitern des hämatologischen Labors bin
ich für die ständige Hilfsbereitschaft dankbar.

Wesentliche Anregungen zur statistischen Bearbeitung
verdanke ich Mitarbeitern des Instituts für Medizi-
nische Statistik und Dokumentation der
Justus-Liebig-Universität Gießen.

LEBENS LAUF

Am 19. Mai 1953 wurde ich als erster Sohn des Schreiners Georg Schirmer und der Hausfrau Luise Schirmer, geborene Sandrock in Melsungen (Nordhessen) geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Malsfeld.

Ab 1964 ging ich zur Geschwister-Scholl-Schule in Melsungen, wo ich im Juni 1972 das Abitur bestand.

Von 1972 bis 1979 studierte ich Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Gießen. Dort legte ich im August 1974 die Ärztliche Vorprüfung, im August 1975 den ersten Abschnitt und im März 1978 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Mein Studium beendete ich erfolgreich am 2. Mai 1979. Die Approbation als Arzt erhielt ich am 16. Mai 1979.

Seit dem 1. Juli 1979 bin ich als Assistenzarzt an der Neurologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen beschäftigt.

Burkhard Schirmer

DRUCK:
DKD-Druck-und Kopierdienst GmbH
6300 Giessen, Frankfurter Str.22
Tel. 0641 / 71878